



HAL
open science

Individualisation et optimisation du traitement parentéral à l'ampicilline chez le chien par approche de pharmacocinétique de populations

Claire Audrac

► **To cite this version:**

Claire Audrac. Individualisation et optimisation du traitement parentéral à l'ampicilline chez le chien par approche de pharmacocinétique de populations. Médecine vétérinaire et santé animale. 2023. dumas-04303434

HAL Id: dumas-04303434

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04303434v1>

Submitted on 23 Nov 2023

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

Année 2023

INDIVIDUALISATION ET OPTIMISATION DU TRAITEMENT PARENTÉRAL À L'AMPICILLINE CHEZ LE CHIEN PAR APPROCHE DE PHARMACOCINÉTIQUE DE POPULATIONS

THÈSE

pour obtenir le diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)

le 20 octobre 2023

par

Claire, Ambre, Coralie AUDRAC

sous la direction de

Matthias KOHLHAUER

JURY

Président du jury :	M. Renaud TISSIER	Professeur à l'EnvA
Directeur de thèse :	M. Matthias KOHLHAUER	Professeur à l'EnvA
Examinatrice :	Mme Christelle MAUREY-GUENEC	Professeure à l'EnvA

Liste des enseignants intervenant dans l'encadrement des thèses de Doctorat vétérinaire



Version juillet 2023

Liste des Professeurs et Maîtres de conférences titulaires de l'HDR

M	Adjou	Karim	Professeur	DPASP
M	Audigié	Fabrice	Professeur	DEPEC
M	Bellier	Sylvain	Professeur	DSBP
M	Blaga	Radu	Professeur	DSBP
M	Blot	Stéphane	Professeur	DEPEC
M	Boulouis	Henri-Jean	Professeur émérite	DSBP
Mme	Chahory	Sabine	Professeur	DEPEC
M	Chateau	Henry	Professeur	DSBP
Mme	Chetboul	Valerie	Professeur	DEPEC
Mme	Crevier-Denoix	Nathalie	Professeur	DSBP
M	Degueurce	Christophe	Professeur	DSBP
M	Denoix	Jean-Marie	Professeur	DEPEC
M	Desquilbet	Loïc	Professeur	DSBP
Mme	Dufour	Barbara	Professeur émérite	DPASP
M	Eloit	Marc	Professeur	DSBP
M	Fayolle	Pascal	Professeur émérite	DEPEC
M	Federighi	Michel	Professeur	DPASP
M	Fontbonne	Alain	Professeur	DEPEC
Mme	Gilbert	Caroline	Professeur	DSBP
M	Grandjean	Dominique	Professeur	DEPEC
Mme	Grimard-Ballif	Bénédicte	Professeur	DPASP
Mme	Haddad-Hoang Xuan	Nadia	Professeur	DPASP
M	Jouvion	Gregory	Professeur	DSBP
M	Kohlhauer	Matthias	Professeur	DSBP
Mme	Le Poder	Sophie	Professeur	DSBP
Mme	Le Roux	Delphine	Maître de conférences HDR	DSBP
M	Manassero	Mathieu	Professeur	DEPEC
Mme	Maurey-Guénec	Christelle	Professeur	DEPEC
M	Millemann	Yves	Professeur	DPASP
Mme	Pilot-Storck	Fanny	Professeur	DSBP
M	Ponter	Andrew	Professeur	DPASP
Mme	Risco-Castillo	Véronica	Maître de conférences HDR	DSBP
Mme	Rivière	Julie	Maître de conférences HDR	DPASP
Mme	Robert	Céline	Professeur	DSBP
M	Tiret	Laurent	Professeur	DSBP
M	Tissier	Renaud	Professeur	DSBP
M	Verwaerde	Patrick	Professeur	DEPEC
Mme	Viateau	Véronique	Professeur	DEPEC

Liste des Maîtres de conférences et Ingénieurs de recherche DMV

M	Arné	Pascal	Maître de conférences	DPASP
Mme	Barassin	Isabelle	Maître de conférences	DPASP
Mme	Barbarino	Alix	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Benckekroun	Ghita	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Bertoni	Lelia	Maître de conférences	DEPEC
M	Bolnot	Francois	Maître de conférences	DPASP
Mme	Canonne-Guibert	Morgane	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Chevallier	Lucie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Cochet-Faivre	Noëlle	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Cordonnier-Lefort	Nathalie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Coudry	Virginie	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Crepeaux	Guillemette	Maître de conférences	DSBP
M	Crozet	Guillaume	Maître de conférences	DPASP
Mme	De Paula Reis	Alline	Maître de conférences	DPASP
M	Delsart	Maxime	Maître de conférences	DPASP
Mme	Denis	Marine	Ingénieur de recherche (DMV)	DPASP
M	Deshuillers	Pierre	Maître de conférences	DSBP
M	Gauthier	Michel	Maître de conférences associé	DPASP
Mme	Guérin	Virginie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Guétin-Poirier	Valentine	Maître de conférences	DPASP
Mme	Jacquet	Sandrine	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Kurtz	Maxime	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Lagré	Anne-Claire	Maître de conférences	DSBP
Mme	Le Dudal	Marine	Ingénieur de recherche (DMV)	DSBP
Mme	Legrand	Chantal	Maître de conférences associé	DSBP
M	Mammeri	Mohamed	Maître de conférences	DSBP
Mme	Manguin	Estelle	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Marignac	Genevieve	Maître de conférences	DSBP
Mme	Marotto	Stéphanie	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Maurice	Emeline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Mespoules-Rivière	Céline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Mtimet	Narjès	Maître de conférences	DPASP
M	Mortier	Jérémy	Maître de conférences associé	DEPEC
M	Nudelmann	Nicolas	Maître de conférences	DEPEC
M	Pignon	Charly	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Polack	Bruno	Maître de conférences	DSBP
Mme	Quéré	Émilie	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Ravary-Plumioën	Bérandère	Ingénieur de recherche (DMV)	DPASP
M	Reyes-Gomez	Edouard	Maître de conférences	DSBP
Mme	Rose	Hélène	Maître de conférences associé	DSBP
M	Tanquerel	Ludovic	Maître de conférences	DEPEC

Remerciements

Au Président du Jury de cette thèse, M. Renaud Tissier, Professeur à l'EnvA,
Pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury,
Hommages respectueux.

À M. Matthias Kohlhauer, Maître de conférences à l'EnvA,
Pour m'avoir proposée ce sujet de thèse ainsi que pour m'avoir aidée tout au long de sa réalisation,
Mes remerciements les plus sincères.

À Mme Christelle Maurey-Guenec, Maître de conférences à l'EnvA,
Pour m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury,
Sincères remerciements.

À mes proches et à ma famille,
Pour leur soutien et leurs encouragements tout au long de ces années,
Merci de tout cœur.

Table des matières

Table des matières	1
Liste des figures	3
Liste des tableaux	5
Liste des abréviations	7
Introduction	9
Première partie : Généralités sur les antibiotiques et utilisation des aminopénicillines en médecine vétérinaire	11
1. Importance des antibiotiques en médecine vétérinaire	11
A. <i>Introduction</i>	11
B. <i>Définitions, notion de CMI et importance des critères PK/PD</i>	14
C. <i>Mécanismes d'action des antibiotiques</i>	18
D. <i>L'antibiorésistance : une préoccupation majeure</i>	19
a. Conséquences des résistances bactériennes	19
b. Les mécanismes de résistance des bactéries	20
c. Évolution de l'exposition aux antibiotiques et utilisation des aminopénicillines en médecine vétérinaire	21
E. <i>Mesures visant à limiter l'apparition de souches résistantes</i>	22
a. Limiter l'emploi des antibiotiques non nécessaires	22
b. Respecter les posologies et la durée du traitement	23
c. Des antimicrobiens désormais réservés à la médecine humaine en Europe	24
F. <i>Bilan</i>	25
2. Les caractéristiques de l'ampicilline	26
A. <i>Structure</i>	27
B. <i>Absorption</i>	28
C. <i>Distribution</i>	28
D. <i>Élimination</i>	29
E. <i>Cibles et mécanisme d'action</i>	29
F. <i>Résistances bactériennes aux pénicillines A</i>	30
G. <i>Toxicité rapportée en médecine vétérinaire</i>	31
H. <i>Indications et utilisation chez les animaux</i>	32
Deuxième partie : Principes et méthodes de la modélisation pharmacocinétique par approche de population	33
1. Principes de la modélisation pharmacocinétique	33
A. <i>Définition de la pharmacocinétique et de la pharmacodynamique</i>	33
B. <i>Paramètres pharmacocinétiques couramment utilisés</i>	33
a. La concentration plasmatique maximale	34
b. Le temps nécessaire pour atteindre la concentration plasmatique maximale	34
c. La biodisponibilité	34
d. Le volume de distribution	35
e. La clairance	35
f. La demi-vie d'élimination	35
g. L'aire sous la courbe	36
h. Le taux de liaison aux protéines	37
C. <i>Les sources de variabilité pharmacocinétique</i>	37
D. <i>L'utilisation de modèles mathématiques</i>	38
E. <i>Intérêts de l'étude pharmacocinétique de population</i>	39
2. Modélisation avec le logiciel Monolix	42

A. Entrée des données sur Datxplore	42
B. Construction du modèle pharmacocinétique à l'aide de la bibliothèque	42
a. Définition du modèle structurel.....	42
b. Estimations initiales des paramètres pharmacocinétiques	43
c. Définition du modèle statistique	44
C. Ajustement du modèle structurel	44
a. Estimation des paramètres de population par la méthode SAEM	44
b. Évaluation du modèle grâce aux tracés diagnostiques	45
D. Ajustement du modèle statistique	46
a. Estimation des paramètres individuels.....	46
b. Estimation des erreurs standards pour les paramètres estimés	46
c. Estimation du « Log-Likelihood »	46
d. Réévaluation du modèle grâce aux graphiques de distribution des paramètres individuels et de distribution des écarts aléatoires standards.....	47
E. Inclusion des covariables dans le modèle statistique	47
a. Recherche de covariables.....	47
b. Évaluation du modèle de covariables.....	49
c. Recherche de corrélations entre les effets aléatoires	49
F. Évaluation finale du modèle pharmacocinétique	49
G. Synthèse	50
Troisième partie expérimentale : Étude de la pharmacocinétique de l'ampicilline chez le chien grâce à la pharmacocinétique des populations (AntibioPop)	51
1. Introduction et objectif de l'étude	51
2. Matériels et méthodes	53
A. Critères d'exclusion et d'inclusion de l'étude	53
B. Description de la séquence de prélèvements	53
C. Traitement et dosage des prélèvements sanguins	54
3. Résultats	54
A. Entrée des données sur Datxplore et premières hypothèses.....	56
B. Choix du modèle structural	57
C. Estimation des paramètres pharmacocinétiques de population	58
D. Ajustement du modèle statistique	61
E. Validation du modèle avec la méthode de VPC	63
4. Discussion.....	65
A. Limites du modèle	65
a. Dosage de l'ampicilline dans les échantillons	65
b. Volume total de perfusion	65
B. Hypothèse pour expliquer la différence de clairance plasmatique observée entre les animaux anesthésiés et hospitalisés	66
C. Perspectives.....	66
Conclusion.....	69
Liste des références bibliographiques	71
Annexe 1 : Modèle de feuille de suivi des prélèvements de sang	77
Annexe 2 : Fiche d'information pour les propriétaires	78

Liste des figures

Figure 1 : Frise chronologique présentant les dates des découvertes des antibiotiques et des résistances au cours du XX ^e siècle (Hutchings <i>et al.</i> , 2019)	11
Figure 2 : Répartition de la consommation d'antibiotiques en Europe en 2001	12
Figure 3 : Volume total d'antibiotiques prescrits en dose journalière définie pour 1000 habitants dans l'UE en 2016 (Direction générale du Trésor, 2018).....	13
Figure 4 : Évolution de la consommation d'antibiotiques en France entre 2005 et 2015 - Indice 1 en 2005 (Direction générale du Trésor, 2018).....	14
Figure 5 : Graphique représentant l'évolution de la concentration d'un antibiotique en fonction du temps et les différents critères PK/PD utilisables (Eyler et Shvets, 2019).....	16
Figure 6 : Distribution des décès chaque année dans le monde (O'Neill J., 2016).....	20
Figure 7 : Mécanismes de résistance des bactéries	21
Figure 8 : Antibiotiques réservés au traitement de certaines infections chez l'homme (Commission Européenne, 2022)	25
Figure 9 : Répartition en pourcentage de la consommation d'antibiotiques en France chez l'Homme en 2016 (ANSM, 2017).....	26
Figure 10 : Répartition des ventes d'antibiotiques pour les animaux de production (en mg/kg de poids vif estimé) en Europe (ESVAC, 2015)	27
Figure 11 : Structure de l'ampicilline et de ses noyaux bêta-lactame et aminobenzyl	28
Figure 12 : Structure de l'enveloppe bactérienne.....	30
Figure 13 : Cibles bactériennes et mécanismes de résistance aux antibiotiques (Cardot Martin, 2019)	31
Figure 14 : Evolution théorique de la concentration sanguine d'un médicament administré par voie extravasculaire en fonction du temps.....	34
Figure 15 : Evolution théorique de la concentration sanguine d'un médicament en fonction du temps lors d'administrations répétées	36
Figure 16 : Evolution de la concentration plasmatique de l'ampicilline chez les chiens après administration par voie intraveineuse d'une dose de 22 mg/kg (Monaghan <i>et al.</i> , 2021)	38
Figure 17 : Choix des paramètres pharmacocinétiques ajustés en comparant les observations individuelles (courbes bleues) et la courbe issue du modèle pharmacocinétique de population ajusté pour chaque individu	43

Figure 18 : Estimations des paramètres pharmacocinétiques et de leurs variances respectives et détermination de l'indicateur de convergence sous la forme de graphiques ..	44
Figure 19 : Graphique de gauche, concentrations réelles observées (en bleu) et tracé des concentrations estimées (en orange). Graphique de droite, tracé des valeurs individuelles observées (en bleu) et prédites (en violet) au cours du temps.....	45
Figure 20 : À gauche, histogrammes de la distribution des différents paramètres individuels et courbes de la distribution théorique de chaque paramètre. À droite, diagrammes en boîte des écarts aléatoires standards de chaque paramètre.	47
Figure 21 : Evaluation de la corrélation entre les paramètres individuels et les covariables suspectées (notées dans l'exemple : AGE, LBM, SEX).....	48
Figure 22 : Représentation graphique de l'évaluation du modèle estimé grâce à la méthode VPC.....	50
Figure 23 : Graphique représentant les tracés reliant les points correspondant aux résultats des dosages d'ampicilline en fonction du temps pour chaque suivi post-injection	56
Figure 24 : Tracés reliant les points correspondant aux résultats des dosages d'ampicilline en fonction du temps pour chaque suivi post-injection (échelle logarithmique pour l'axe des ordonnées).....	57
Figure 25 : Graphiques représentant la courbe de pharmacocinétique de population ajustée (en rouge) et les données individuelles observées (points bleus)	59
Figure 26 : Courbes de prédiction individuelles (en violet) après utilisation de l'algorithme SAEM et données individuelles observées (points bleus) pour chaque suivi obtenu après injection d'ampicilline.....	60
Figure 27 : Répartition des points représentant les données observées par rapport à la droite d'identité (prédictions individuelles = observations)	61
Figure 28 : Logarithme des clairances plasmatiques individuelles en fonction du service d'inclusion	62
Figure 29 : Graphique représentant la médiane, les 10 ^e et 90 ^e centiles des données observées (courbes bleues), les intervalles de prédiction (en rose et bleu) et les écarts anormaux (en rouge).....	63

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification des antibiotiques concentration-dépendants, temps-dépendants et mixtes (McKellar <i>et al.</i> , 2004)	16
Tableau 2 : Mécanismes d'action des différentes familles d'antibiotiques utilisées en médecine vétérinaire (Kapoor <i>et al.</i> , 2017).....	18
Tableau 3 : Avantages et inconvénients de l'analyse pharmacocinétique par approche de population (Simon N. <i>et al.</i> , 2005)	41
Tableau 4 : Comparaison des approches « classique » et « de population » lors d'analyse pharmacocinétique (Pastor, 2013).....	41
Tableau 5 : Études portant sur les paramètres PK/PD de l'ampicilline chez le chien	52
Tableau 6 : Tableau récapitulatif des cas de l'étude AntibioPop	55
Tableau 7 : Valeurs finales des paramètres pharmacocinétiques de population du modèle associées à leur erreur standard relative (R.S.E%)	64

Liste des abréviations

AUC : Aire sous la courbe

Cl : Clairance

C_{max} : Concentration maximale atteinte

CMI : Concentration minimale inhibitrice

COMERC : Comité d'éthique en recherche clinique

F : Biodisponibilité

PD : Pharmacodynamique

PK : Pharmacocinétique

T_{1/2} : Temps de demi-vie

T_{max} : Temps pour lequel la concentration maximale est atteinte

V_d : volume de distribution

Introduction

La lutte contre l'antibiorésistance représente actuellement un enjeu majeur de santé publique en médecine humaine et vétérinaire. Cette menace est notamment liée à une utilisation parfois trop systématique de ces molécules ou à des doses inadaptées. Afin de limiter le risque de développement de résistances bactériennes en médecine vétérinaire, il est fondamental de rationaliser les usages de prescription des antibiotiques chez l'animal et notamment au travers d'une réflexion autour de l'optimisation des posologies utilisées.

L'ampicilline (en association avec son inhibiteur des bêta-lactamases, le sulbactam) est un antibiotique fréquemment utilisé en médecine vétérinaire. Cependant, les données pharmacocinétiques relatives à cette molécule chez le chien sont mal connues et les doses sont souvent déterminées empiriquement. Les études pharmacocinétiques de l'ampicilline chez le chien sont peu nombreuses et reposent sur une approche traditionnelle de prélèvements chez des chiens de laboratoire ne permettant pas de rendre compte de la variabilité pharmacocinétique pouvant être rencontrée chez les animaux de propriétaires. Face à ce constat, il semble aujourd'hui important de conduire une étude permettant de déterminer plus précisément le profil pharmacocinétique de l'ampicilline par voie intraveineuse afin d'en réévaluer la posologie et d'optimiser les chances de réussite du traitement chez le chien afin, *in fine*, de limiter le risque d'apparition de résistances.

L'objectif de cette étude est donc de décrire la pharmacocinétique de l'ampicilline chez le chien de propriétaire en utilisant une approche de pharmacocinétique de population ou « analyse par régression linéaire à effet mixte ». Cette approche de population permet de construire des modèles pharmacocinétiques à partir de covariables explicatives afin de prédire et d'ajuster, pour n'importe quel individu, la dose et la fréquence d'administration. Cette méthode statistique innovante permettra d'évaluer l'influence de différentes caractéristiques sur le comportement pharmacocinétique de la molécule.

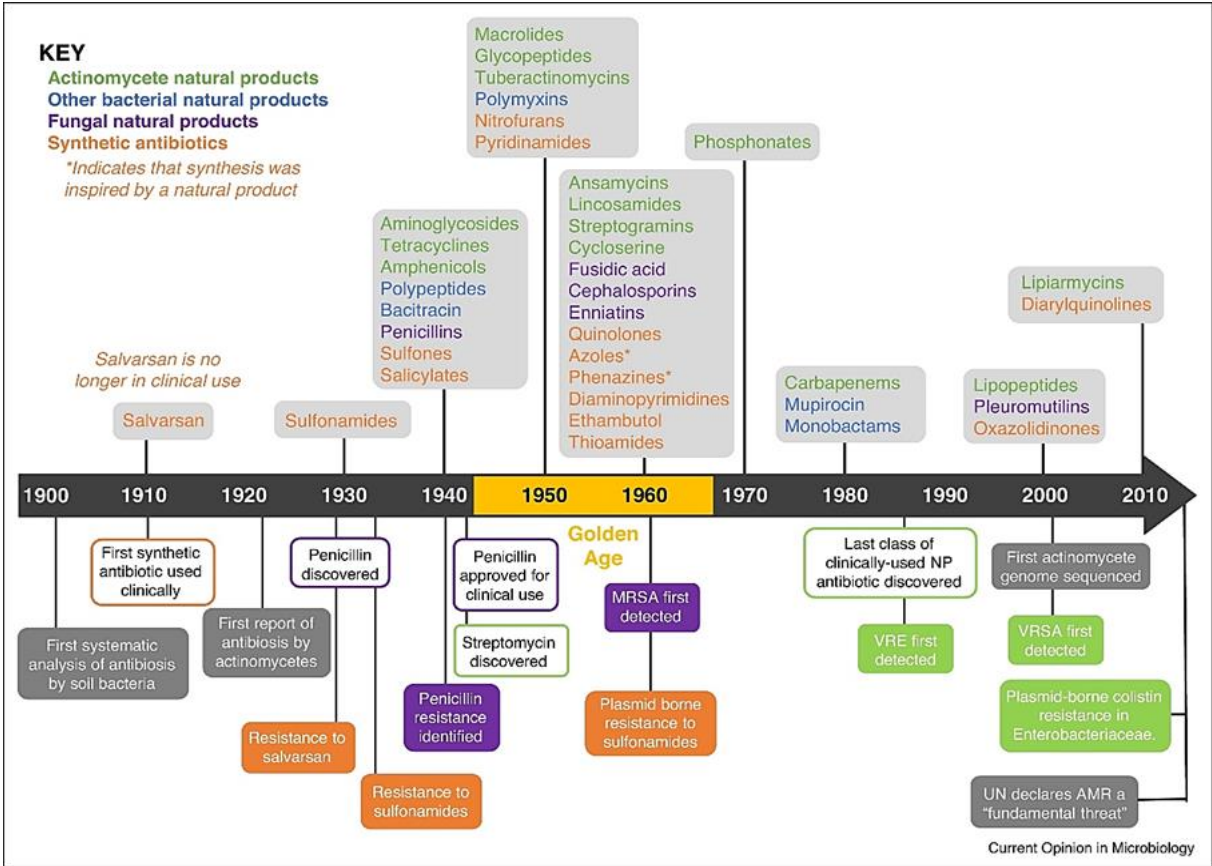
Première partie : Généralités sur les antibiotiques et utilisation des aminopénicillines en médecine vétérinaire

1. Importance des antibiotiques en médecine vétérinaire

A. Introduction

Les antibiotiques constituent une avancée médicale majeure du XX^e siècle ayant permis de diminuer de façon considérable les décès liés aux infections et d'augmenter l'espérance de vie de 23 ans environ en un siècle (Hutchings *et al.*, 2019).

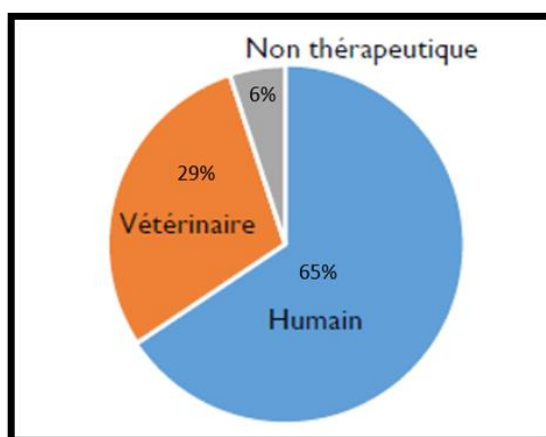
Figure 1 : Frise chronologique présentant les dates des découvertes des antibiotiques et des résistances au cours du XX^e siècle (Hutchings *et al.*, 2019)



Comme on peut l'observer sur la figure 1, les familles d'antibiotiques ont principalement été découvertes avant les années 1970 et sont donc relativement anciennes. Néanmoins, à partir des chefs de file des familles découvertes initialement, de nombreux dérivés ont été créés afin d'améliorer leur pharmacocinétique, de contourner des résistances, d'étendre leur spectre bactérien ou de diminuer leur toxicité.

On estime d'après les données de la Fédération européenne de la santé animale, que la médecine vétérinaire représente environ un tiers de la consommation totale d'antibiotiques en Europe (FEDESA, 2001). Le vétérinaire a donc un rôle majeur à jouer dans l'utilisation raisonnée des antibiotiques en suivant les règles de bonnes pratiques d'utilisation (réalisation d'antibiogrammes, utilisation des antibiotiques critiques uniquement en cas de nécessité, *etc.*) visant à limiter l'apparition de résistances bactériennes afin de conserver l'efficacité de l'arsenal thérapeutique mis à disposition.

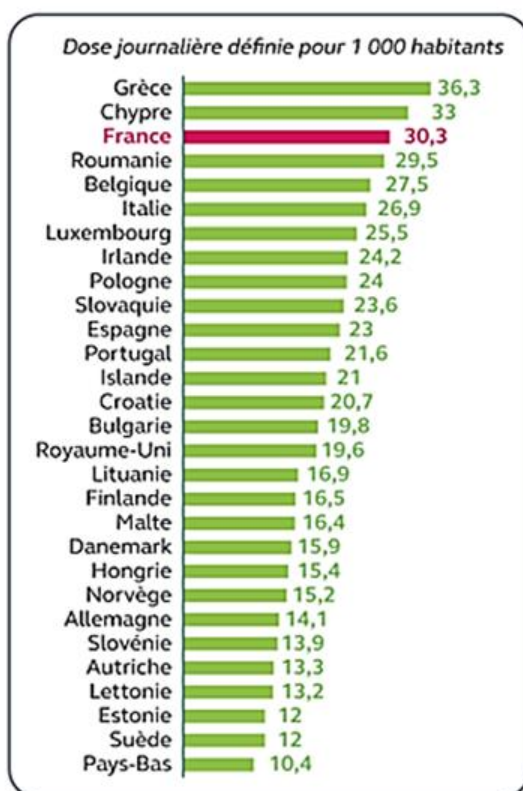
Figure 2 : Répartition de la consommation d'antibiotiques en Europe en 2001



Dès le début des années 2000 en France, l'utilisation débridée des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire (avec des ventes globales d'antibiotiques en médecine vétérinaire supérieures à 30% des ventes actuelles (EMA, 2018)) à l'origine d'une aggravation de l'antibiorésistance, a nécessité la mise en place de mesures de prudence avec l'adoption dès 2001 de la recommandation 2002/77/CE (Conseil de l'Europe, 2001) afin de préserver leur efficacité dans le futur. Cette action a permis une diminution notable de la consommation des antibiotiques au cours de la première décennie du XXI^e siècle, celle-ci reste cependant anormalement élevée en France comparée aux autres pays européens. Actuellement très mal classée au sein de l'Union européenne, la France se situait, en 2016, avec la Grèce et Chypre, parmi les trois pays les plus consommateurs d'antibiotiques (Figure 3).

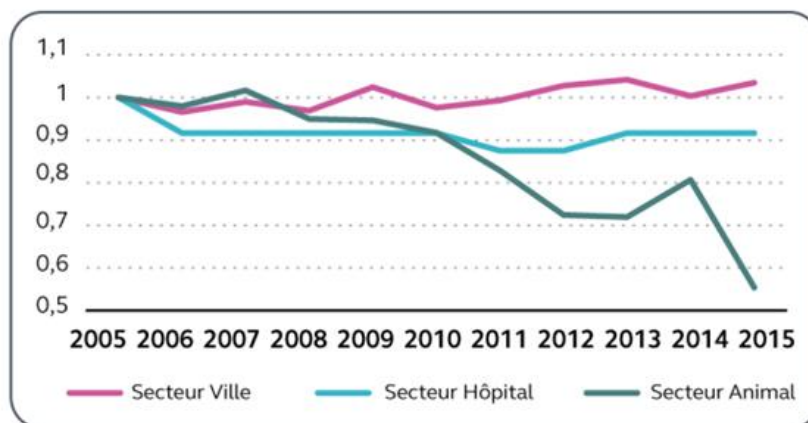
Aucune raison épidémiologique qui pourrait justifier l'écart de la consommation par habitant entre la France et le Pays-Bas n'a été mise en évidence. Ce dernier est le pays qui consomme actuellement le moins d'antibiotiques par habitant, avec une consommation trois fois inférieure à celle de la France (Cour des comptes, 2019). Il est donc primordial de continuer à promouvoir et d'amplifier les actions en faveur d'un bon usage des antibiotiques auprès de tous les acteurs concernés : patients, professionnels de la santé humaine et vétérinaire, et décideurs.

Figure 3 : Volume total d'antibiotiques prescrits en dose journalière définie pour 1000 habitants dans l'UE en 2016 (Direction générale du Trésor, 2018)



Un effort important en médecine vétérinaire en France a été réalisé grâce à des mesures nationales et en particulier via le plan Ecoantibio I. Ainsi, la baisse de l'exposition des animaux aux antibiotiques sur la durée du plan est de 37 % entre 2012 et 2016, toutes filières animales confondues. Plus globalement, entre 2007 et 2017, l'exposition globale des animaux aux antibiotiques a diminué de 48 % (Santé publique France et partenaires, 2018). Cette évolution de la consommation d'antibiotiques concorde avec les résultats présentés par la Direction générale du Trésor en 2018 (Figure 4).

Figure 4 : Évolution de la consommation d'antibiotiques en France entre 2005 et 2015 - Indice 1 en 2005 (Direction générale du Trésor, 2018)



Les services sanitaires mènent désormais une surveillance rapprochée autour de l'antibiorésistance, ce qui a permis de confirmer l'apparition de bactéries hautement résistantes aux antibiotiques chez l'Homme, menaçant l'efficacité globale des systèmes de soin. Les conséquences sanitaires en France sont importantes : Santé Publique France a estimé à 158 000 les infections à bactéries multirésistantes en France, provoquant 12 000 décès en 2012 (Institut de veille sanitaire, 2015). Parmi les bactéries les plus menaçantes pour la santé humaine, on retrouve des bactéries pathogènes de l'Homme mais aussi des agents de zoonose. Il s'agit donc d'un signal supplémentaire de l'importance d'une approche globale (objectif « One Health ») dans la lutte contre l'antibiorésistance.

Aujourd'hui, les infections bactériologiques représentent 2% des décès en France, mais elles pourraient bientôt redevenir une cause majeure de mortalité (Direction générale du Trésor, 2018).

B. Définitions, notion de CMI et importance des critères PK/PD

Un antibiotique est par définition une substance naturelle ou synthétique capable, à faible concentration, d'inhiber la croissance bactérienne ou de tuer sélectivement des bactéries. Les molécules antibiotiques utilisées peuvent ainsi être distinguées des biocides en ce qu'elles agissent à faibles doses et spécifiquement contre les bactéries.

Il existe deux modes d'action différents pour les antibiotiques. Certains sont bactériostatiques, c'est-à-dire qu'ils inhibent la croissance bactérienne, et d'autres éliminent sélectivement les bactéries, on parle alors d'antibiotique bactéricide.

Afin de déterminer la quantité minimale d'antibiotique nécessaire pour espérer un effet inhibiteur sur la croissance bactérienne pour une souche donnée, différentes

études se sont intéressées à l'efficacité *in vitro* des antibiotiques sur milieu liquide ou sur gélose. La concentration minimale inhibitrice (CMI) est alors définie comme la plus petite concentration d'un antibiotique permettant l'inhibition de la croissance bactérienne après une durée d'incubation dépendant de la bactérie étudiée (Andrews, 2001).

Les antibiotiques bactéricides sont à l'origine d'une décroissance de la population bactérienne d'autant plus rapide que leur concentration est élevée et supérieure à la CMI de la souche. Les antibiotiques bactériostatiques en revanche, inhibent la croissance bactérienne pour des concentrations supérieures à la CMI mais l'exposition à des concentrations plus élevées n'entraîne pas une réduction de la taille de la population bactérienne. Quel que soit le type d'antibiotique, la valeur de CMI permet donc de déterminer la concentration à laquelle l'antibiotique montrera une action vis-à-vis d'une souche bactérienne donnée. La CMI est donc une valeur permettant de caractériser *in vitro* l'efficacité d'un antibiotique.

Bien que la CMI soit un outil intéressant pour caractériser et comparer différents antibiotiques entre eux ou différentes souches bactériennes, son utilisation présente quelques limites. Ainsi la principale limite est qu'une valeur de CMI n'est parfois pas prédictive de l'effet *in vivo* de l'efficacité de l'antibiotique. Ainsi, par exemple, certains antibiotiques comme les bêta-lactamines présentent une durée d'action assez lente ce qui impose que la concentration reste au-dessus de la CMI pendant une durée suffisamment longue au cours du traitement. On parle alors d'antibiotiques « temps-dépendants ». L'ampicilline, par exemple, se concentre considérablement dans les urines et dans la bile avant d'être éliminée en partie sous sa forme active. Ainsi, la plupart des posologies usuelles permettent de produire une concentration d'ampicilline aisément supérieures à la CMI dans les voies urinaires et biliaires pendant une durée suffisamment longue. En revanche, cette molécule ne franchit pratiquement pas les barrières prostatique et hémato-encéphalique ce qui l'empêche d'atteindre des concentrations suffisamment importantes pour être pleinement efficace dans ces tissus. Connaître la valeur de CMI (déterminée *in vitro*) d'une souche bactérienne impliquée lors d'une infection ne permet donc pas de garantir l'efficacité de l'antibiotique *in vivo*. Afin d'optimiser l'efficacité des antibiotiques et de minimiser les résistances *in vivo*, une meilleure compréhension de la relation entre la pharmacocinétique de la molécule chez l'individu traité et son action sur les pathogènes (pharmacodynamie) est indispensable.

Les antibiotiques sont classés en trois groupes : concentration-dépendants, temps-dépendants et mixtes (voir tableau 1). Les molécules concentration-dépendantes sont d'autant plus efficaces que leur concentration est élevée. Les antibiotiques temps-dépendants, pour être efficaces, ont besoin d'être à une concentration supérieure à une valeur seuil pendant une certaine durée. Enfin, il existe des antibiotiques qui combinent les deux conditions et dont l'efficacité dépend

donc du temps et de leur concentration, on parle d'antibiotiques mixtes (McKellar *et al.*, 2004). Ainsi, si le rythme d'administration et/ou les doses ne sont pas respectées, le traitement peut s'avérer inefficace.

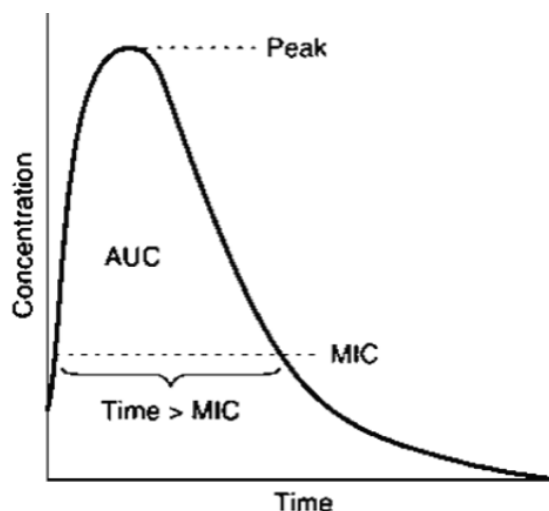
Tableau 1 : Classification des antibiotiques concentration-dépendants, temps-dépendants et mixtes (McKellar *et al.*, 2004)

Concentration-dependent	Time-dependent	Co-dependent
Aminoglycosides	Beta-lactams	Beta-lactams*
Fluoroquinolones	Macrolides (except azithromycin)	Fluoroquinolones [†]
Metronidazole (vs. anaerobes)	Clindamycin Vancomycin	Glycopeptides

*In relation to reduction in resistance selection pressure.
[†]Some with anaerobic activity.

Sur un graphique représentant l'évolution de la concentration d'un antibiotique en fonction du temps (Figure 5), la concentration maximale (Peak) et la durée pendant laquelle la concentration est supérieure à la CMI (Time > MIC) sont les paramètres à prendre en compte pour optimiser l'effet d'un antibiotique concentration-dépendant et temps-dépendant respectivement. Les antibiotiques mixtes nécessitent une aire sous la courbe (AUC) suffisamment importante pour être efficaces.

Figure 5 : Graphique représentant l'évolution de la concentration d'un antibiotique en fonction du temps et les différents critères PK/PD utilisables (Eyler et Shvets, 2019)



L'ensemble des espèces bactériennes contre lesquelles un antibiotique donné aura un effet est appelé le spectre de l'antibiotique. Les souches qui n'appartiennent pas au spectre sont dites « naturellement résistantes ». Certaines bactéries peuvent cependant développer des résistances, on parle alors de résistances acquises. Ce spectre est essentiel à connaître puisqu'il conditionne le choix de la molécule à administrer pour combattre l'infection. Un antibiotique est dit critique s'il est générateur de résistances bactériennes et/ou s'il présente un intérêt particulier en traitement dit de "dernier recours". Leur utilisation à des fins préventives d'infection est donc interdite. Les antibiotiques critiques à préserver sont à ce jour les céphalosporines de 3^e et 4^e génération et les fluoroquinolones, dont l'usage en médecine vétérinaire est interdit sans la réalisation préalable d'un examen clinique de l'animal et d'un antibiogramme. Il est possible de s'affranchir de cette règle en cas d'urgence vitale, mais un antibiogramme doit forcément être réalisé pour permettre une réadaptation du traitement dans les quatre jours.

Un moyen de connaître l'efficacité *in vitro* d'une molécule antibiotique pour une souche bactérienne donnée est de réaliser un antibiogramme. L'antibiogramme détermine la CMI de différents antibiotiques pour une souche d'intérêt et permet ainsi de déterminer la sensibilité théorique de la bactérie vis-à-vis de ces molécules. En reprenant l'exemple donné précédemment avec l'ampicilline, lors d'une infection du système nerveux central, il n'est pas attendu que la CMI soit atteinte dans les tissus infectés. L'antibiogramme peut néanmoins rapporter la valeur « sensible » pour l'ampicilline sans que cette molécule ne soit capable d'atteindre une concentration suffisante aux sites d'intérêt : encéphale et moelle épinière. De même, l'activité du système immunitaire ou de médicaments supplémentaires peut affecter de manière significative l'effet du traitement antibiotique auquel le micro-organisme est sensible *in vitro*. L'antibiogramme n'est donc pas prédictif de l'efficacité *in vivo* de l'antibiotique.

La CMI déterminée en laboratoire est comparée à des valeurs seuils pour déterminer si la souche bactérienne considérée est sensible ou résistante à l'antibiotique. Ces seuils de CMI en deçà desquels on considère la bactérie comme sensible sont actuellement fixés et publiés par plusieurs organismes dans le monde : EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing), CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) et la FDA (Food and Drug Administration). La détermination de ces seuils repose sur une dose maximale fixée d'antibiotique pour laquelle les valeurs sont ensuite établies. L'interprétation de ces tests de sensibilité aux antibiotiques dépend des recommandations adoptées dans un pays donné (EUCAST, CLSI, FDA) et peut varier pour une même valeur de CMI (Kowalska-Krochmal et Dudek-Wicher, 2021).

Une utilisation de la valeur de CMI obtenue *in vitro*, à partir de paramètres pharmacocinétiques individuels, améliorerait considérablement l'efficacité de

l'antibiothérapie. La méthodologie de détermination de ces paramètres PK/PD individuels est complexe mais ils peuvent être estimés à l'aide d'une simulation de Monte Carlo. Cette simulation repose sur des paramètres pharmacocinétiques de populations préalablement déterminés et sur la CMI de l'antibiotique. La méthode de Monte-Carlo est un algorithme de calcul qui utilise un échantillonnage aléatoire répété afin d'obtenir la probabilité d'occurrence d'une série de résultats et donc d'estimer la probabilité que le mode d'administration de l'antibiothérapie soit efficace pour un groupe d'individus spécifique et une CMI donnée. La méthode de Monte Carlo permet ainsi d'évaluer la relation entre la CMI de l'antibiotique et ses paramètres PK/PD en tenant compte de la posologie choisie (dose, voie et rythme d'administration spécifiques). C'est donc un outil fondamental pour vérifier si un changement de posologie, pour une valeur de CMI donnée, aura un effet positif sur les critères PK/PD retenus pour prédire l'efficacité de la molécule dans l'organisme (critères d'efficacité de l'antibiotique).

C. Mécanismes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés selon leur mécanisme d'action sur les bactéries (voir tableau 2).

Tableau 2 : Mécanismes d'action des différentes familles d'antibiotiques utilisées en médecine vétérinaire (Kapoor *et al.*, 2017)

Familles d'antibiotiques	Mécanismes d'action
Pénicillines et céphalosporines	Action contre la paroi bactérienne (bactéricides, actifs surtout sur les bactéries Gram positif et sur les bactéries en division)
Antibiotiques polypeptidiques	Action sur la membrane plasmique (bactéricides, actifs surtout sur les bactéries Gram négatif, peu sélectifs des bactéries avec une toxicité importante)
Aminosides, macrolides, tétracyclines, chloramphénicol	Action sur la synthèse protéique (Aminosides : bactéricides par la synthèse de protéines non fonctionnelles. Macrolides, tétracyclines, chloramphénicol : bactériostatiques par arrêt de synthèses protéiques.)
Rifamycines et quinolones	Action sur la synthèse d'ADN et d'ARN (Rifamycines : inhibition de la transcription d'ARN. Quinolones : arrêt de la répllication de l'ADN. Les deux familles sont bactéricides.)
Sulfamides	Inhibition des voies métaboliques (bactériostatiques, spectre large et peu toxiques)
Nitroimidazolés	Catalysation de réaction d'oxydo-réduction (effet anti-anaérobie et bactéricide)

Une classification des antibiotiques selon leur mécanisme d'action contre les bactéries permet d'appréhender leur spectre mais aussi de comprendre les mécanismes de résistances.

D. L'antibiorésistance : une préoccupation majeure

Les antibiotiques sont des médicaments qui servent à lutter contre les infections dues à des bactéries en les tuant ou en bloquant leur prolifération. C'est une des découvertes les plus importantes en médecine qui permet de sauver des millions de vies humaines et animales chaque année. Cependant, leur efficacité est grandement menacée car les bactéries peuvent s'adapter et résister au traitement. Les bactéries dites « résistantes » sont insensibles à certaines de ces molécules.

Les bactéries résistantes provoquent chez l'animal ou l'Homme des infections plus difficiles à traiter que celles dues à des bactéries sensibles. Le choix de l'antibiotique qui peut être prescrit est alors plus limité. Des bactéries peuvent être résistantes à un ou à plusieurs antibiotiques on parle alors de bactéries multirésistantes. Dans certains cas, une bactérie peut être résistante à tous les antibiotiques utilisables, elle est alors dite pan-résistante et peut entraîner une impasse thérapeutique pouvant engager le pronostic vital du patient.

a. Conséquences des résistances bactériennes

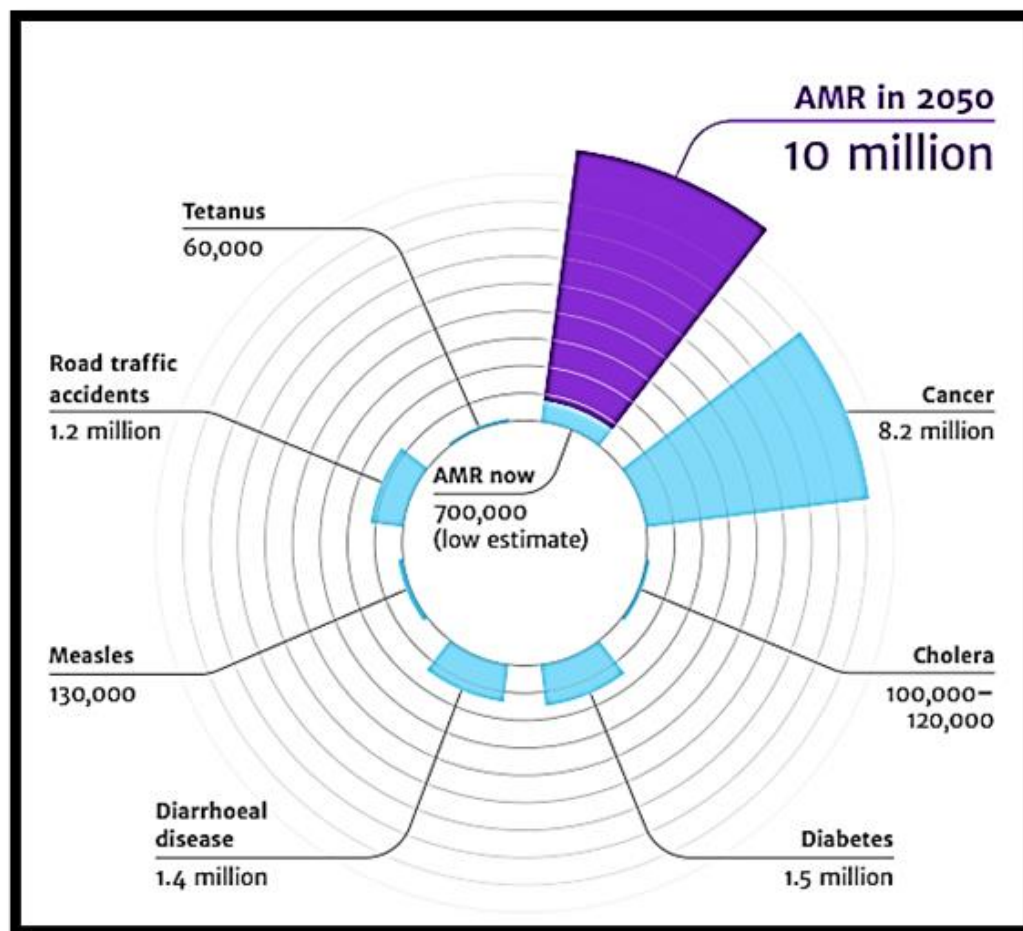
L'antibiorésistance est un problème majeur de santé publique mondiale, concernant aussi bien la médecine humaine que vétérinaire, réduisant les possibilités de traitement chez toutes les espèces animales. La perte d'efficacité des antibiotiques impacte autant la santé humaine et animale que celle des écosystèmes, ces santés étant interconnectées et formant un tout. C'est pourquoi la lutte contre l'antibiorésistance est un défi à relever sous une approche « One Health : une seule santé » (McEwen and Collignon, 2018).

D'après une étude menée par Jim O'Neill et parue en 2016, l'antibiorésistance devrait causer plus de dix millions de morts par an dans le monde d'ici 2050 (Figure 6). Par ailleurs, les conséquences ne seront pas uniquement d'ordre sanitaire mais aussi économique avec des pertes dépassant plusieurs milliards d'euros d'ici 2050 (O'Neill J., 2016).

Aux Etats-Unis, 2 millions de personnes souffrent d'une infection à germe résistant et au moins 23 000 personnes en meurent chaque année (Frieden T., 2013). En Angleterre environ 46 000 personnes meurent de sepsis chaque année, ce qui est plus important que le nombre de décès liés au cancer du poumon, qui sont au

nombre de 35 000 environ, avec pour explication principale l'implication de bactéries résistantes (ANTRUK, 2022).

Figure 6 : Distribution des décès chaque année dans le monde (O'Neill J., 2016)



b. Les mécanismes de résistance des bactéries

Les modes d'apparition des résistances bactériennes sont nombreux. Certaines résistances naturelles et constantes constituent des critères d'identification pour les bactéries. D'autres résistances, qualifiées d'acquises, vont être consécutives à des modifications de l'équipement génétique chromosomique et/ou plasmidique avec des fréquences d'apparition variant dans le temps et l'espace.

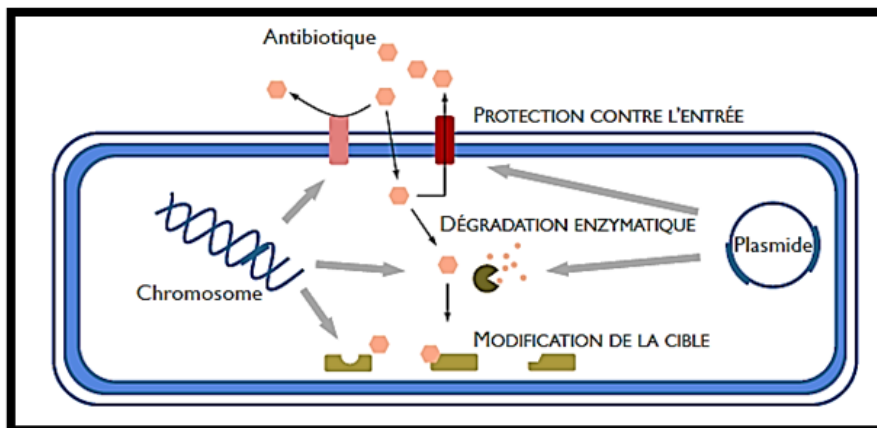
Les résistances reposant sur les échanges de plasmides sont fréquentes et à transmission horizontale. Les résistances incluses dans l'équipement chromosomique sont plus rares, stables, héréditaires et spécifiques des espèces bactériennes. Si la souche n'exprime que des résistances naturelles, on dit qu'elle appartient au phénotype sauvage ou sensible. Si des résistances acquises ont

modifié sa sensibilité, elle exprime un phénotype de résistance. Ces résistances acquises sont souvent utilisées comme marqueurs épidémiologiques.

Par l'intermédiaire de transferts de matériel génétique, les bactéries parviennent donc à s'échanger de nombreuses résistances aux antibiotiques (Hooper, 2000). De plus, différents systèmes au sein du génome bactérien existent et permettent le maintien de certaines résistances, en conservant les plasmides associés, même en l'absence de pression de sélection (Darphorn *et al.*, 2021).

Les résistances bactériennes reposent sur différents mécanismes. Certaines bactéries parviennent à synthétiser des enzymes capables d'inactiver les antibiotiques, d'autres sont imperméables à leur pénétration au travers de la membrane plasmique ou génèrent des systèmes d'efflux. Aussi, certains mécanismes de résistance reposent sur des modifications de la cible de l'antibiotique empêchant alors son effet. Enfin, certaines bactéries peuvent présenter simultanément plusieurs de ces mécanismes qui sont résumés sur la figure 7 (Abushaheen *et al.*, 2020).

Figure 7 : Mécanismes de résistance des bactéries



c. Évolution de l'exposition aux antibiotiques et utilisation des aminopénicillines en médecine vétérinaire

Les résultats de l'année 2021 indiquent que l'exposition globale des animaux aux antibiotiques a diminué en un an. Des baisses d'exposition ont notamment été observées pour les principales espèces productrices de denrées alimentaires par rapport à 2020. Cependant, l'exposition des chats, des chiens et des chevaux a augmenté et sera à surveiller au cours des prochaines années. Après une forte baisse entre 2013 et 2017, l'exposition aux antibiotiques d'importance critique reste stable et à des niveaux faibles (ANSES, 2022). Au cours des deux plans Ecoantibio, cette forte baisse de l'utilisation des antibiotiques d'importance critique a néanmoins

conduit à des reports vers d'autres familles notamment celle des aminopénicillines associées ou non à un inhibiteur des bêta-lactamases (acide clavulanique ou sulbactam).

Ainsi, malgré cette diminution de l'exposition globale des animaux aux antibiotiques, l'exposition aux pénicillines a fortement augmenté ces dernières années pour les carnivores domestiques : le niveau d'exposition en 2021 est 10% supérieur à celui de 2011. L'augmentation de l'exposition aux pénicillines enregistrée depuis 2016 concerne plus particulièrement les comprimés associant de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique qui représentent environ 43% de l'exposition des chats et chiens en 2021 (ANSES, 2022).

En 2019, l'Agence Européenne du Médicament (EMA) a classé les antibiotiques en quatre catégories (A, B, C et D) selon leur niveau de préoccupation. L'amoxicilline associée à l'acide clavulanique et l'ampicilline sulbactam sont classées dans la catégorie « C : Attention » selon la catégorisation de l'AMEG alors que l'amoxicilline et l'ampicilline seules sont classées dans la catégorie « D : Prudence » (EMA, 2019). Les recommandations de l'EMA suggèrent donc d'utiliser les antibiotiques de catégorie « C » que s'il n'existe pas d'antibiotique efficace au plan clinique dans la catégorie « D » comprenant des molécules moins à risque des générer des résistances. À l'heure actuelle, ces recommandations de l'EMA ne sont pas transcrites en obligations réglementaires pour les vétérinaires et la part des aminopénicillines dans les ventes continue d'augmenter fortement. Cela s'accompagne par exemple de l'augmentation des résistances aux bêta-lactamines observées chez les *Escherichia coli* isolées chez les chiens et chats malgré une tendance à la stabilité voire à la diminution des résistances pour les autres familles d'antibiotiques (ANSES, 2022).

E. Mesures visant à limiter l'apparition de souches résistantes

a. Limiter l'emploi des antibiotiques non nécessaires

L'antibiorésistance est largement favorisée par une utilisation non nécessaire et massive des antibiotiques. Leur utilisation implique toujours une pression de sélection sur les bactéries résistantes et d'après une étude de 2003 au moins 30% des prescriptions d'antibiotiques aux Etats-Unis sont inutiles (Hecker *et al.*, 2003). Cette étude met en évidence qu'une mauvaise utilisation des antibiotiques est souvent observée pour le traitement d'infections respiratoires causées par des virus qui ne répondent pas aux antibiotiques.

De plus, de nombreuses prescriptions dépassent les durées recommandées pour le traitement des infections et les molécules administrées ne sont pas toujours efficaces contre l'agent infectieux en cause : on constate souvent des incohérences

entre le spectre de l'antibiotique et la souche bactérienne visée (Hecker *et al.*, 2003). Ce mésusage des antibiotiques risque de sélectionner de mutants résistants dans le tube digestif, sur la flore cutanée, *etc.* Différentes recommandations tendent à limiter leur prescription qui est devenue quasiment systématique notamment lors des chirurgies. Par exemple, dans les cas où la chirurgie n'est pas contaminée et d'une durée inférieure à une heure, l'antibiothérapie n'est pas recommandée en médecine vétérinaire (Trepanier, 2013). Aussi, le recours au traitement métaphylactique avec des antibiotiques en élevage est à éviter dans la mesure du possible, puisqu'il provoque une pression de sélection importante sur les bactéries et favorise ainsi l'acquisition de nouvelles résistances (INRA, 2018). De surcroît, la sélection de bactéries multirésistantes dans les intestins favorisée par ces pratiques, contribue à la dissémination de ces bactéries dans l'environnement et donc à la contamination d'autres hôtes (Roche-güe *et al.*, 2021).

La réalisation d'un antibiogramme, qui est un outil de mesure des résistances microbiennes, est conseillée dans la mesure où il permet d'améliorer considérablement les chances de réussite du traitement en s'assurant de l'efficacité de l'antibiothérapie. L'antibiogramme permet ainsi de limiter l'extension des résistances acquises. Il présente un coût d'environ 10€, ce qui est très peu comparé au coût du traitement d'une infection un tant soit peu sévère. A titre d'exemple, le coût d'une septicémie à *S. aureus* a été chiffré à 15 000€ en médecine humaine (Marcel, 2005). L'exécution de l'antibiogramme prend du temps et son résultat est généralement obtenu en 48-72 heures, ce qui est parfois trop long pour un phénomène aigu. Sa réalisation pratique est donc parfois difficile. Il est fortement recommandé lors d'un risque de complications avéré, après une mauvaise réponse au traitement initial, dans le cadre des récives et lors de suspicions de germes résistants. La réalisation d'un antibiogramme apparaît nécessaire lorsque le pronostic vital est engagé et pour le traitement d'individus immunodéprimés. En France, environ 6 millions de tests pour 90 millions de prescriptions antibiotiques sont réalisés chaque année, ce qui est peu (Marcel, 2005).

b. Respecter les posologies et la durée du traitement

L'une des solutions pour limiter le risque de résistance est aussi d'adapter la posologie aux différentes situations et d'optimiser les traitements suivant les caractéristiques des individus.

En effet, il est aujourd'hui bien démontré que la sous-exposition aux antibiotiques est un facteur important d'apparition des résistances bactériennes (Guardabassi *et al.*, 2018). L'utilisation de doses d'antibiotiques, d'intervalles d'administration ou de durées de traitement inadéquates peuvent ainsi conduire à un sous-dosage relatif et favoriser la sélection de mutants bactériens résistants. Afin de

réduire ce risque, l'objectif des traitements antibiotiques consiste donc à définir des schémas posologiques optimaux qui permettent de minimiser le temps pendant lequel les concentrations plasmatiques peuvent être à des niveaux suboptimaux et à l'origine d'une sélection de mutants bactériens résistants (Tam *et al.*, 2007).

Alexander Fleming nous avait mis en garde lors de sa conférence pour son prix Nobel en 1945 : « *There may be a danger, though, in underdosage. It is not difficult to make microbes resistant to penicillin in the laboratory by exposing them to concentrations not sufficient to kill them, and the same thing has occasionally happened in the body.* » (Alexander Fleming, 1945). Aussi, de nombreux patients cessent leur traitement antibiotique avant la fin de la période prescrite par leur médecin, au moment de leur guérison clinique. Néanmoins, le moment de l'amélioration des symptômes ne correspond pas nécessairement à la guérison bactériologique et un arrêt précoce du traitement engendre un risque de persistance de l'infection avec des bactéries résistantes au traitement initial. La durée de l'antibiothérapie doit être optimisée, et ce dernier point est un domaine qui peut être largement amélioré en matière de prescription (OMS, 2020).

c. Des antimicrobiens désormais réservés à la médecine humaine en Europe

L'un des combats de la médecine vétérinaire et humaine est de traiter les infections bactériennes qui sont à l'origine d'une morbidité et d'une mortalité importante dans le monde.

Dans les années 1940, la pénicilline qui est un antibiotique efficace contre de nombreuses bactéries a été largement utilisée conduisant à une diminution de son efficacité avec l'apparition de résistances bactériennes (Abushaheen *et al.*, 2020). Ainsi, une utilisation inappropriée des antibiotiques pourrait conduire à ce que des chercheurs appellent une « ère post-antibiotique » dans laquelle des infections mineures deviendraient une cause majeure de mortalité (Wang *et al.*, 2020).

La lutte contre l'antibiorésistance apparaît désormais comme un objectif majeur en Europe. L'utilisation d'antibiotiques pour les animaux est désormais plus encadrée et le risque d'émergence de phénomènes d'antibiorésistance est inclus dans la balance bénéfice-risque des médicaments. La Commission Européenne a publié le 19 juillet 2022 dans le règlement d'exécution 2022/1255 la liste des substances antimicrobiennes réservées à l'être humain (Figure 8).

**Figure 8 : Antibiotiques réservés au traitement de certaines infections chez l'homme
(Commission Européenne, 2022)**

- a) Carboxypénicillines
- b) Uréidopénicillines
- c) Ceftobiprole
- d) Ceftaroline
- e) Combinaisons de céphalosporines et d'inhibiteurs de bêta-lactamase
- f) Céphalosporines Sidérophores
- g) Carbapénèmes
- h) Pénèmes
- i) Monobactames
- j) Dérivés de l'acide phosphoreux
- k) Glycopeptides
- l) Lipopeptides
- m) Oxazolidinones
- n) Fidaxomicine
- o) Plazomicine
- p) Glycylcyclines
- q) Éravacycline
- r) Omadacycline

L'ensemble des dispositions prises par la Commission Européenne vise à soutenir la stratégie de la ferme à la fourchette du « Green Deal » de l'Union européenne, ayant pour objectif une réduction de 50% des ventes globales d'antibiotiques pour les animaux d'élevage et l'aquaculture d'ici 2030. Le risque d'émergence d'antibiorésistances, étant désormais inclus dans la balance bénéfice-risque des médicaments vétérinaires, peut conduire à des refus d'autorisation de mise sur le marché ainsi qu'à des demandes d'études post-autorisation pouvant conduire à de nouvelles restrictions d'utilisation.

F. Bilan

De très nombreux mécanismes de résistances aux antibiotiques, anciens et émergents, menacent la santé animal et humaine en augmentant le nombre de souches multirésistantes à l'origine d'un grand nombre de décès.

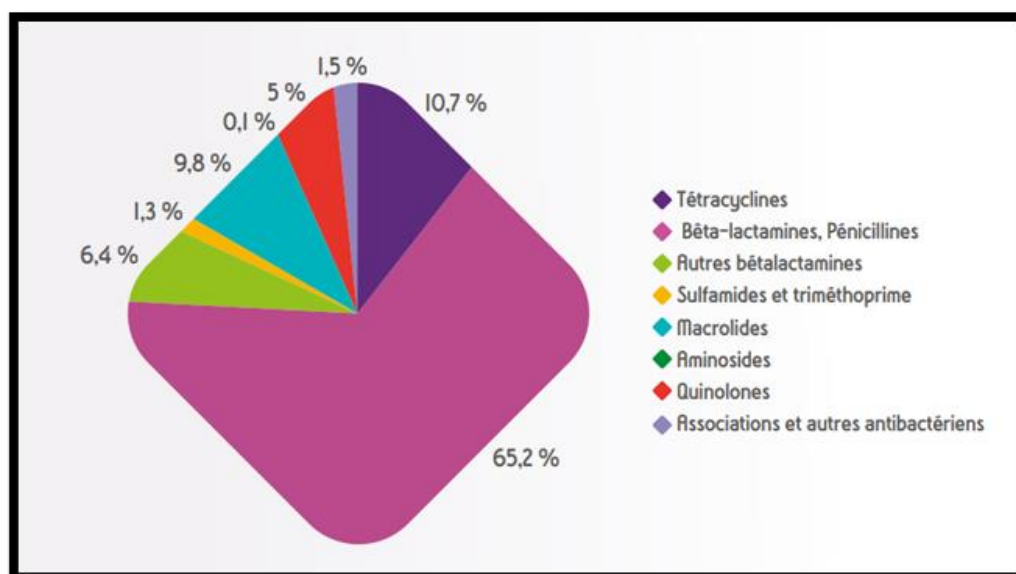
Ces résistances sont par ailleurs favorisées lors de l'usage accru d'antibiotiques. Dans ce contexte, des prescriptions raisonnées d'antimicrobiens sont indispensables, s'appuyant idéalement sur des antibiogrammes et avec des durées d'utilisation réfléchies. Cette utilisation responsable est de rigueur pour préserver l'efficacité thérapeutique des antibiotiques actuels.

Les aminopénicillines sont très utilisées chez les carnivores domestiques avec une augmentation des souches résistantes nécessitant de rationaliser rapidement leur utilisation. Pour une utilisation prudente et plus responsable des antibiotiques, les vétérinaires sont encouragés à prendre en considération la catégorisation européenne de l'AMEG dans leur choix de prescription (EMA, 2019). En effet, la lutte contre l'antibiorésistance ne repose pas seulement sur une réduction des quantités consommées. Elle implique également une maîtrise de cette consommation sur le plan qualitatif, en optimisant les doses administrées de façon notamment à « épargner » les substances antibiotiques générant le plus de résistances bactériennes.

2. Les caractéristiques de l'ampicilline

L'ampicilline appartient à la famille des bêta-lactamines et au groupe des aminopénicillines ou pénicillines A avec l'amoxicilline. Il s'agit de la plus ancienne famille d'antibiotiques naturels, très utilisée en médecine vétérinaire et humaine comme on peut le constater sur les graphiques 9 et 10 ci-dessous.

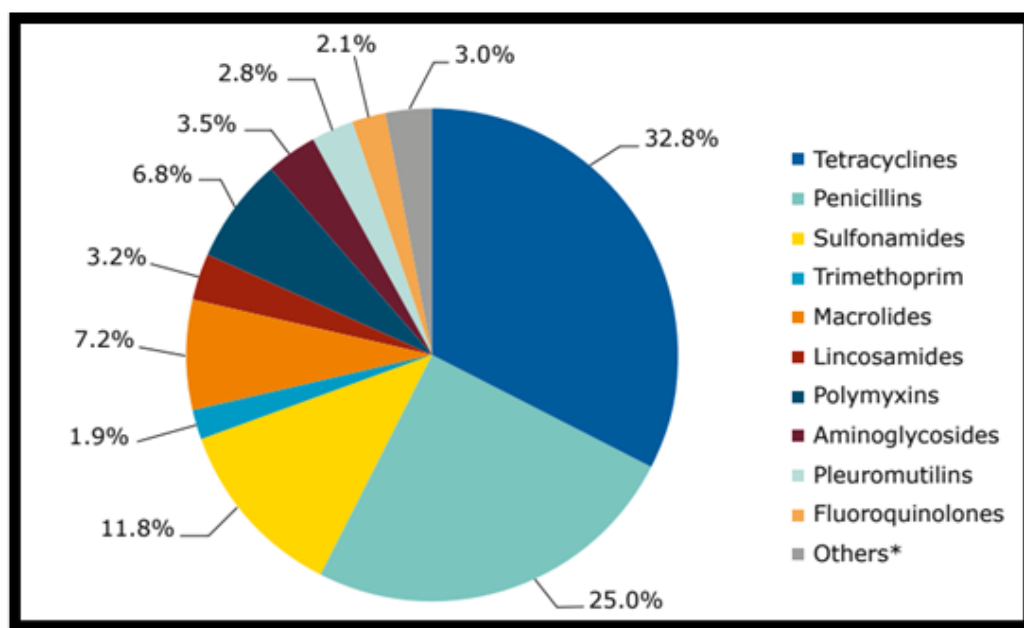
Figure 9 : Répartition en pourcentage de la consommation d'antibiotiques en France chez l'Homme en 2016 (ANSM, 2017)



Plus des deux tiers de la consommation totale d'antibiotiques en France provient des bêta-lactamines (seules ou associées). Au sein de cette classe, on retrouve l'amoxicilline seule ou en association avec l'acide clavulanique, particulièrement générateur de résistances bactériennes, et l'ampicilline associée ou non au Sulbactam (Figure 9).

Il n'existe pas de spécialité vétérinaire d'ampicilline possédant une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) par voie intraveineuse chez les carnivores domestiques. La seule spécialité indiquée chez le chien par voie parentérale est une association de dexaméthasone, de colistine et d'ampicilline (Sodibio®).

Figure 10 : Répartition des ventes d'antibiotiques pour les animaux de production (en mg/kg de poids vif estimé) en Europe (ESVAC, 2015)



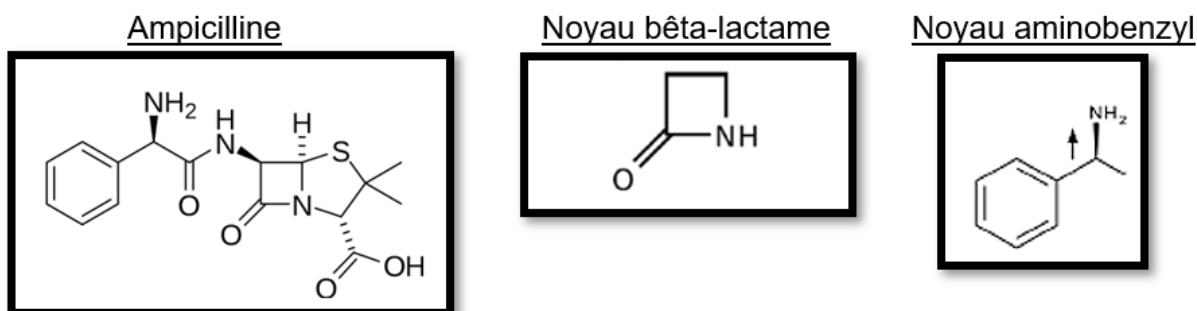
Chez les animaux de production, l'utilisation des pénicillines est très importante et correspond à un quart des ventes en Europe, juste après les tétracyclines qui regroupent un tiers des ventes (Figure 10).

A. Structure

L'ampicilline ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$) possède un noyau bêta-lactame commun à toutes les molécules de la famille et qui est le support de l'activité des bêta-lactamines.

Ce noyau constitue aussi la cible des principaux mécanismes de résistances bactériennes et possède une grande instabilité. Néanmoins, les pénicillines A (amoxicilline et ampicilline) se caractérisent par la présence d'un noyau aminobenzyl permettant une bonne stabilité de leur noyau bêta-lactame en milieu acide. Les structures de l'ampicilline, de son noyau bêta-lactame et de son noyau aminobenzyl sont détaillées sur la figure 11.

Figure 11 : Structure de l'ampicilline et de ses noyaux bêta-lactame et aminobenzyl



B. Absorption

La biodisponibilité de l'ampicilline après administration par voie orale chez les chiens est relativement faible et variable puisqu'elle est évaluée à 30–40%.

Son absorption est aussi fortement limitée par la prise de nourriture. Ainsi son utilisation en médecine vétérinaire est limitée à la voie parentérale (Küng *et al.*, 1995).

L'ampicilline étant un acide faible, elle se trouve sous sa forme ionisée au pH physiologique et est donc hydrosoluble, garantissant donc une absorption parentérale rapide et complète.

C. Distribution

L'ampicilline est assez liposoluble ($\log P = 1.35$) mais possède une fonction d'acide carboxylique qui lui confère un caractère d'acide faible avec un pKa de 2,5 environ. Elle se trouve donc majoritairement sous sa forme ionisée au pH physiologique et son volume de distribution est compris entre 0,3 et 0,9 L/kg chez les chiens en bonne santé (Monaghan *et al.*, 2021).

S'agissant d'un acide faible, elle présente par ailleurs une très modeste distribution dans le lait. De plus, l'ampicilline ne franchit pas les barrières prostatique et hémato-encéphalique sauf en cas d'inflammation marquée (Peechakara *et al.*, 2023).

Enfin, sa distribution est excellente dans le compartiment extracellulaire des tissus bien vascularisés (Chang-Xiao *et al.*, 1990), mais sa concentration dans les urines est bien plus importante en raison de son mécanisme d'élimination (*cf* ci-dessous).

L'ampicilline présente un faible taux de liaison aux protéines plasmatiques : environ 20%, contrairement aux autres pénicillines avec des taux variant de 60 à 90% (Peechakara *et al.*, 2023).

D. Élimination

L'ampicilline se concentre rapidement dans les urines et est éliminée à hauteur de 50% environ par voie urinaire sous sa forme inchangée et active (Peechakara *et al.*, 2023).

Cette excrétion par les reins a lieu essentiellement au niveau des tubules rénaux par sécrétion active liée à la présence de transporteurs de type Organic Anions Transporters (OAT). Une partie de l'élimination urinaire se fait aussi par filtration glomérulaire.

Cette molécule est peu métabolisée par le foie et subit un cycle entéro-hépatique lui permettant d'atteindre jusqu'à 40 fois la concentration plasmatique dans la bile (Ten Voorde *et al.*, 1990).

E. Cibles et mécanisme d'action

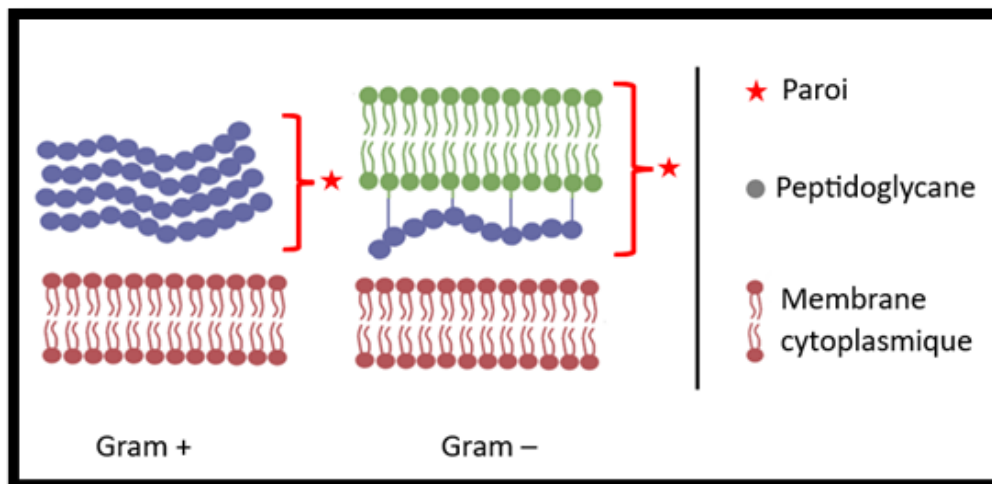
L'ampicilline est un antibiotique bactéricide agissant sur la paroi des bactéries (Figure 12) lorsqu'elles sont en phase de multiplication.

Son spectre d'activité recouvre non seulement les germes à Gram positif (par exemple les streptocoques, staphylocoques et corynébactéries) mais également certains germes à Gram négatif, notamment les entérobactéries, par exemple *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Pasteurella*, *Haemophilus* et *Proteus*. L'ampicilline en association avec le sulbactam permet de contrer les résistances des germes producteurs de bêta-lactamases, le sulbactam étant un inhibiteur rapide et irréversible des pénicillinases.

L'ampicilline possède un noyau bêta-lactame capable de se lier aux peptidoglycanes des parois bactériennes. Une fois la liaison entre l'ampicilline et la bactérie formée, l'équilibre entre la lyse et la synthèse de ces peptidoglycanes est rompu et les bactéries deviennent incapables de résister à la pression osmotique exercée sur leur membrane plasmique et meurent par lyse osmotique (Peechakara *et al.*, 2023). Le mécanisme d'action de l'ampicilline est donc bactéricide mais nécessite que les bactéries soient en train de synthétiser leur paroi. L'ampicilline cible ainsi les bactéries en division et perd en efficacité lors de stase bactérienne, lors de sporulation ou lors d'association avec un antibiotique bactériostatique (comme les tétracyclines, les sulfamides, *etc.*).

Compte-tenu de sa vitesse d'action relativement faible, le principal critère PK/PD retenu dans la littérature est la temps dépendance, avec pour objectif une concentration plasmatique supérieure à la concentration minimale inhibitrice (CMI) pendant une durée supérieure à 50% de l'intervalle d'administration (Kowalska-Krochmal and Dudek-Wicher, 2021). En cas d'augmentation de sa concentration au-delà de la CMI, aucune augmentation de la vitesse de bactéricidie n'est observée.

Figure 12 : Structure de l'enveloppe bactérienne



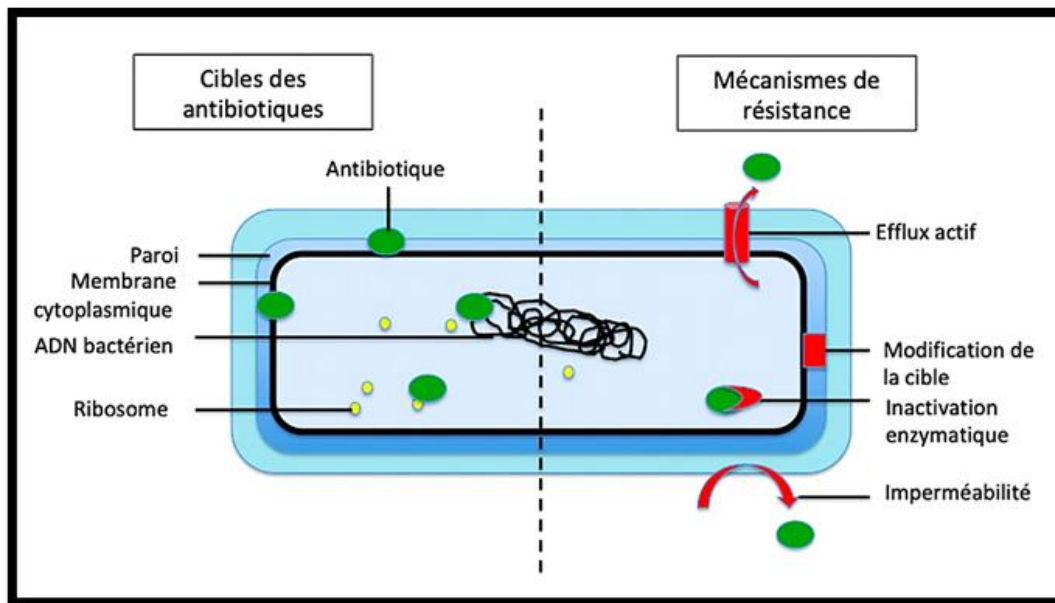
F. Résistances bactériennes aux pénicillines A

L'ampicilline, comme toutes les aminopénicillines, est un antibiotique à large spectre confronté à différents mécanismes de résistances bactériennes (Figure 13) : imperméabilisation, modification de la cible de l'antibiotique, inactivation enzymatique et efflux (Cardot Martin, 2019).

- La cause de résistance la plus fréquente est l'inactivation enzymatique du principe actif qui concerne 95% des *S. aureus*. En effet, une bactérie peut acquérir des gènes de résistance permettant la synthèse d'enzymes nommées bêta-lactamases capables d'hydrolyser le noyau bêta-lactame de l'ampicilline, neutralisant ainsi son action bactéricide.
- L'imperméabilisation bactérienne (naturelle ou acquise) implique que les molécules antibiotiques ne parviennent plus à franchir les porines de la membrane externe des bactéries. Ces porines constituent la voie d'entrée de l'antibiotique et si elles sont altérées, l'accès des bêta-lactamines à la paroi bactérienne est limité, réduisant leur efficacité.

- Une modification de la cible de l'antibiotique entraîne une perte d'activité des bêta-lactamines par une diminution de l'affinité pour leur fixation.
- Des systèmes de pompes à efflux permettent également d'éliminer l'antibiotique en dehors de la bactérie.

Figure 13 : Cibles bactériennes et mécanismes de résistance aux antibiotiques (Cardot Martin, 2019)



G. Toxicité rapportée en médecine vétérinaire

L'ampicilline perturbe des mécanismes essentiels à la vie cellulaire des bactéries en altérant la synthèse de leur paroi. Ce mécanisme d'action étant très spécifique des bactéries, ses effets toxiques directs sont peu nombreux y compris lors d'utilisation prolongée (Ten Voorde *et al.*, 1990).

L'ampicilline peut néanmoins provoquer dans de rares cas des phénomènes d'hypersensibilité après son administration. Les réactions allergiques à cette substance peuvent occasionnellement être sévères et donner lieu à l'apparition d'un choc anaphylactique (ANMV, 2012). Ces allergies aux pénicillines sont évaluées à environ 8% des cas chez l'Homme (Haouichat H. *et al.*, 2002) mais sont beaucoup plus rares et moins sévères chez l'animal. Bien qu'il n'y ait pas de données publiées sur le sujet, il semble que l'ampicilline soit moins à risque de réaction allergique que l'amoxicilline.

Chez les rongeurs, les chevaux et les lagomorphes l'utilisation des pénicillines est une contre-indication relative. Leur administration peut s'accompagner rapidement d'un déséquilibre de la flore fécale composée en partie de bactéries à

Gram positif, et d'une entérotoxémie souvent fatale. Leur usage est donc souvent déconseillé pour ces espèces.

H. Indications et utilisation chez les animaux

L'ampicilline est un antibiotique efficace contre les germes à Gram positif et contre certains germes à Gram négatif et possède donc un large spectre d'action. Son association avec le sulbactam est très fréquente et présente une bonne sécurité d'emploi.

Cet antibiotique est ainsi souvent utilisé en médecine vétérinaire en première intention pour traiter les infections bactériennes à germes sensibles. Les autorisations d'emploi en médecine vétérinaire sont néanmoins peu nombreuses. Cet antibiotique est retrouvé dans différentes préparations pour le traitement des mammites chez les bovins et pour le traitement d'infections digestives chez les volailles, les porcs, les bovins et les petits ruminants.

Les antibiotiques administrables par voie intraveineuse chez les carnivores domestiques disposant d'une autorisation de mise sur le marché vétérinaire sont limités à ce jour aux quinolones. Il n'existe donc à l'heure actuelle aucune spécialité injectable par voie intraveineuse contenant de l'ampicilline (associée ou non au sulbactam) autorisée chez le chien. Pour cette raison, la majeure partie des prescriptions d'ampicilline à l'EnvA concernent une spécialité humaine, l'Unacim® indiquée pour le traitement des infections à germes sensibles aux pénicillines A dans le cadre de la cascade. L'association ampicilline - sulbactam est couramment utilisée chez les carnivores domestiques lors d'antibioprophylaxie au cours de chirurgies et pour le traitements d'infections variées : urinaires, systémiques, pulmonaires et lors de la phase de bactériémie de la leptospirose par exemple (Kitsos, 2020). Chez le chien, l'ampicilline (en association avec son inhibiteur des bêtalactamases, le sulbactam) est aujourd'hui la molécule antibiotique la plus administrée à l'EnvA.

Deuxième partie : Principes et méthodes de la modélisation pharmacocinétique par approche de population

1. Principes de la modélisation pharmacocinétique

A. Définition de la pharmacocinétique et de la pharmacodynamique

La pharmacocinétique (PK) est l'étude descriptive et quantitative du devenir d'un médicament dans l'organisme après administration et s'intéresse ainsi à l'évolution des concentrations plasmatiques de la molécule étudiée en fonction du temps.

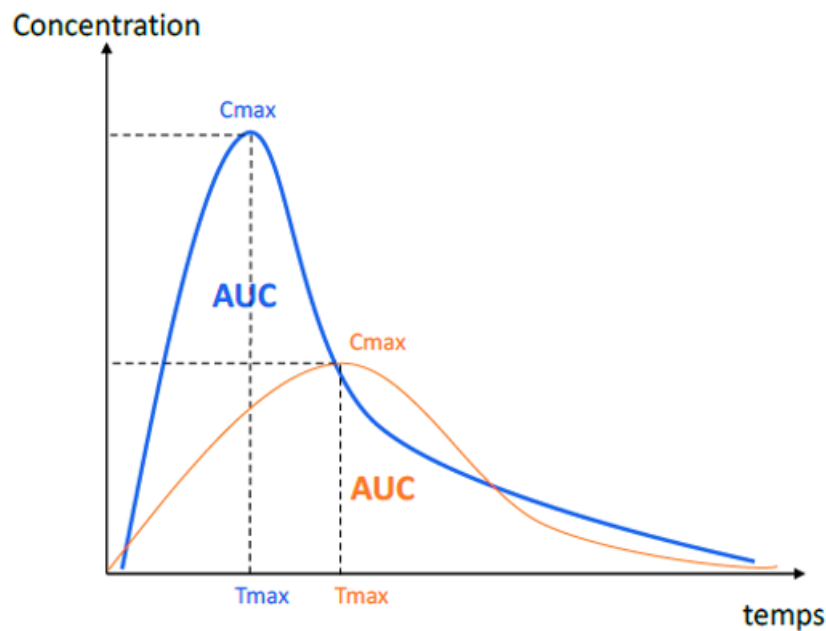
L'étude des effets exercés par un médicament sur l'organisme s'appelle la pharmacodynamie (PD). Cette discipline prend en compte les valeurs de concentrations du principe actif au niveau de ses sites d'action, déterminées en partie par la concentration plasmatique.

B. Paramètres pharmacocinétiques couramment utilisés

Différents paramètres pharmacocinétiques sont utilisés pour préciser les étapes du devenir d'une molécule dans l'organisme :

- La biodisponibilité (F)
- Le volume de distribution (Vd)
- La clairance (Cl)
- La demi-vie d'élimination ($T_{1/2}$)
- L'aire sous la courbe (AUC)
- Le taux de liaison aux protéines
- La concentration maximale atteinte (C_{max})
- Le temps pour lequel la concentration maximale est atteinte (T_{max})

Figure 14 : Evolution théorique de la concentration sanguine d'un médicament administré par voie extravasculaire en fonction du temps



a. La concentration plasmatique maximale

La concentration maximale est notée C_{max} et correspond à la concentration plasmatique maximale atteinte après administration puis absorption du principe actif considéré.

Le C_{max} est un paramètre pharmacocinétique qui évalue la concentration maximale à laquelle l'organisme va être soumis. Cette valeur est particulièrement intéressante pour les molécules dites "concentration-dépendantes" pour lesquelles la concentration maximale est prédictive de l'effet. Le C_{max} dépend de l'absorption, de l'élimination et de la dose administrée.

b. Le temps nécessaire pour atteindre la concentration plasmatique maximale

Le temps nécessaire pour atteindre la concentration plasmatique maximale (C_{max}) d'un médicament après administration est noté T_{max} (Figure 14). Ce paramètre pharmacocinétique est exprimé en heures et dépend des vitesses d'absorption et d'élimination des médicaments administrés par voie extravasculaire.

c. La biodisponibilité

La biodisponibilité d'un médicament est notée F et correspond à la fraction de la dose administrée qui passe dans la circulation générale.

La biodisponibilité caractérise ainsi l'ampleur de l'absorption du principe actif avec une valeur sans unité comprise entre 0 et 1 (ou sous forme d'un pourcentage). En pratique, cette valeur est de 100% ($F = 1$) lors d'administration du principe actif par voie intraveineuse, pour laquelle l'absorption est totale. Dans le cas d'une administration extravasculaire, la biodisponibilité est souvent inférieure en raison d'une première étape d'absorption.

d. Le volume de distribution

Le volume de distribution noté V_d et renseigne sur la capacité de distribution du médicament dans l'organisme. Le volume de distribution correspond au volume fictif (exprimé en L ou en L/kg) dans lequel se serait distribué le médicament en supposant que sa concentration soit homogène dans tous les compartiments de l'organisme, c'est-à-dire que la concentration tissulaire moyenne soit identique à celle du plasma.

Dans le cas d'un médicament à fort tropisme tissulaire, seule une faible quantité de principe actif restera dans la circulation sanguine, ce qui impliquera une concentration plasmatique basse et un volume de distribution élevé. Au contraire, un médicament qui restera dans la circulation sanguine aura un faible volume de distribution.

e. La clairance

La clairance plasmatique est notée Cl et reflète les capacités de l'organisme à éliminer un principe actif. Elle représente le volume apparent de plasma épuré de la substance d'intérêt par unité de temps et est donc exprimée sous la forme d'un débit en mL/min (ou L/h).

On peut déterminer la clairance globale ou totale de l'organisme (Cl_T) qui correspond à la somme des clairances individuelles d'organes. Habituellement, le foie et les reins constituent les principaux organes responsables de l'élimination. La clairance globale est ainsi souvent approximée comme la somme des clairances hépatique et rénale.

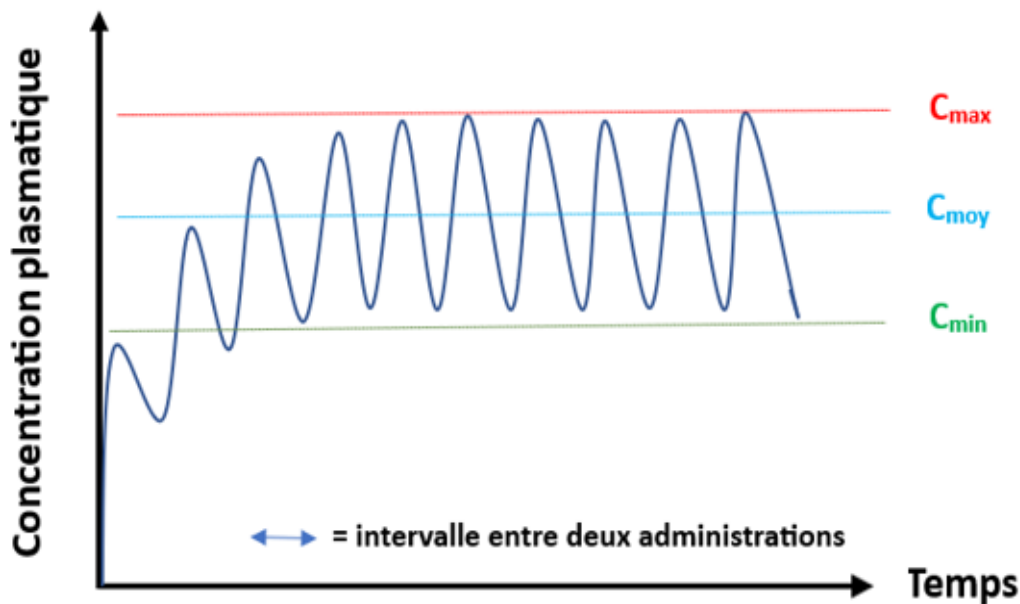
f. La demi-vie d'élimination

La demi-vie d'élimination plasmatique terminale notée $T_{1/2}$ est le temps nécessaire pour que la concentration plasmatique diminue de moitié lorsque la distribution est en équilibre dynamique. La demi-vie d'élimination est exprimée en unité de temps et

peut varier de quelques secondes à plusieurs semaines, dépendant de la clairance et du volume de distribution.

La connaissance de la demi-vie permet de prévoir l'ampleur de l'accumulation en cas d'administration répétées et le temps nécessaire pour obtenir une concentration plasmatique d'équilibre ou plateau de concentration (voir figure 15).

Figure 15 : Evolution théorique de la concentration sanguine d'un médicament en fonction du temps lors d'administrations répétées



Le plateau de concentration correspond à l'état d'équilibre atteint au bout d'un certain nombre d'administrations. Afin que la concentration plasmatique augmente lors d'administrations répétées, il faut qu'une concentration résiduelle persiste lors de l'administration suivante. Au plateau, si la dose et la fréquence d'administration restent stables, la concentration obtenue le sera également. Le plateau est obtenu au bout d'environ cinq demi-vies pour les molécules présentant une pharmacocinétique monophasique (Kohlhauer M., 2018). La demi-vie d'élimination est par exemple utile lors de la mise en place d'un traitement antiépileptique à base de phénobarbital dont le but est d'atteindre une concentration plasmatique stable par des administrations répétées.

g. L'aire sous la courbe

L'aire sous la courbe d'évolution de la concentration plasmatique d'un médicament en fonction du temps après administration est notée AUC (« area under curve »).

Elle correspond à l'intégrale de la concentration plasmatique de la molécule considérée sur un intervalle de temps défini et s'exprime en mg/L.h. Son principal intérêt est de permettre la mesure de la biodisponibilité d'un médicament lors d'une administration extravasculaire, en comparant la valeur de l'AUC totale obtenue par voie extravasculaire et celle observée après une administration intraveineuse.

h. Le taux de liaison aux protéines

Le taux de liaison aux protéines plasmatiques correspond au pourcentage de molécules fixées aux protéines plasmatiques.

Après avoir été absorbé, le médicament se retrouve dans le sang qui assure le transport et la distribution du principe actif aux autres tissus de l'organisme. Cette fraction de la dose est dite « libre » et est diffusible aux autres tissus. C'est donc la fraction capable de présenter une activité au niveau des sites d'action du principe actif et soumise au processus de filtration glomérulaire au niveau des reins. Les médicaments sont transportés dans le sang soit dissouts dans le plasma, soit fixés sur les protéines (l'albumine principalement). Les deux formes sont en équilibre dynamique.

La fixation aux protéines plasmatiques dépend de plusieurs facteurs dont les caractéristiques physico-chimiques et acido-basiques de la molécule. Cette fixation a un impact important sur le métabolisme, la distribution et l'élimination du principe actif. Ce paramètre est fondamental pour l'étude des médicaments à faible marge thérapeutique et dont la fixation aux protéines plasmatiques est élevée. En effet, il existe un risque de surdosage important en cas de déplacement de l'équilibre entre la forme liée aux protéines et la forme libre.

C. Les sources de variabilité pharmacocinétique

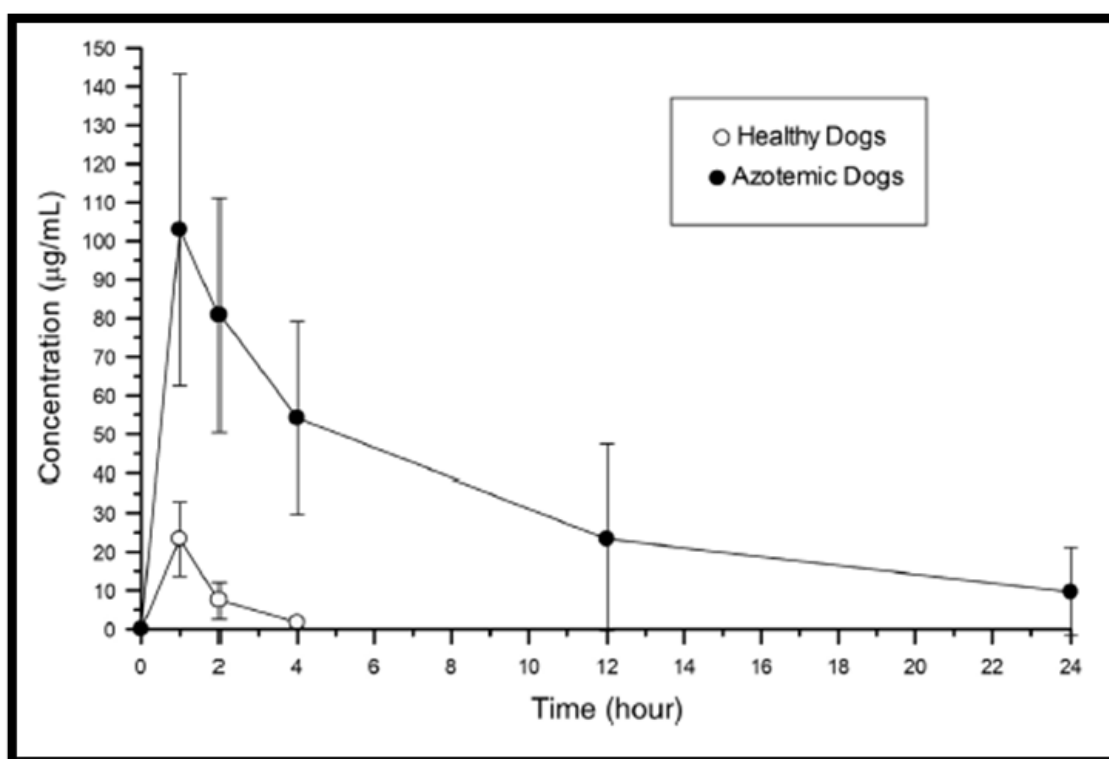
La pharmacocinétique d'un médicament peut varier énormément d'un sujet à l'autre (variabilité interindividuelle) et pour un même sujet, d'un moment à un autre (variabilité intra-individuelle) y compris lors d'administrations équivalentes (concentration et voie d'administration identiques).

Différents facteurs contribuent à cette variabilité en agissant sur les étapes clé du devenir d'un médicament dans l'organisme que sont l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion du principe actif considéré (A-D-M-E). Ces sources de variabilité peuvent être de nature physiologique (variations d'espèce, de race, d'âge, de sexe ou lors de gestation), pathologique (obésité, insuffisance organique), environnementale ou encore liées au médicament lui-même lors d'interactions

médicamenteuses. On peut également observer des variations dépendantes de la durée d'administration de la molécule.

À titre d'exemple, une étude menée en 2021 s'est intéressée à la pharmacocinétique de l'ampicilline chez les chiens azotémiques et les chiens en bonne santé. Les chiens souffrant d'insuffisance rénale présentaient une clairance et un volume de distribution significativement inférieurs à ceux des chiens en bonne santé. L'insuffisance rénale constitue ainsi une source de variabilité de la pharmacocinétique de l'ampicilline (voir figure 16).

Figure 16 : Evolution de la concentration plasmatique de l'ampicilline chez les chiens après administration par voie intraveineuse d'une dose de 22 mg/kg (Monaghan *et al.*, 2021)



D. L'utilisation de modèles mathématiques

Du développement des médicaments à l'individualisation des doses en milieu clinique, les approches basées sur des modèles mathématiques sont devenues essentielles pour résoudre les problèmes d'optimisation des doses.

Grâce aux progrès des sciences biomédicales et grâce à l'utilisation en routine des logiciels informatiques depuis plusieurs années, la modélisation pharmacocinétique fait désormais partie intégrante de l'étude des médicaments afin d'anticiper leurs effets et l'efficacité de leur dosage. Cette utilisation de logiciels par

l'industrie pharmaceutique est de plus en plus importante comme le montre le nombre croissant de publications sur les modélisations pharmacocinétiques.

La réalisation de ces modèles mathématiques nécessite plusieurs mesures de la concentration plasmatique de la molécule considérée à différents moments après son administration. Une régression linéaire est par la suite réalisée sur ces concentrations afin de déterminer une équation simple capable de décrire l'évolution de la concentration au cours du temps. Les différents paramètres pharmacocinétiques présentés précédemment peuvent ensuite être déterminés afin de décrire les différentes étapes d'absorption, de distribution et d'élimination du principe actif. La caractérisation de ces différentes étapes est indispensable pour optimiser les doses de médicament à administrer et prédire les résidus chez les espèces des rentes.

Plusieurs modèles mathématiques sont possibles pour décrire le devenir d'un médicament dans l'organisme. Les modèles pharmacocinétiques sont des modèles mathématiques qui considèrent généralement l'organisme comme un ensemble de compartiments : on parle d'approche compartimentale. Ces différents modèles pharmacocinétiques diffèrent par la façon dont les compartiments sont connectés entre eux. On peut ainsi séparer les modèles pharmacocinétiques empiriques (de pharmacocinétique individuelle ou de population) et les modèles physiologiques. Les modèles empiriques ont généralement un compartiment central représenté par le plasma avec un ou deux compartiments périphériques reliés au compartiment central. Chacun de ces compartiments représentent un espace virtuel dans lequel le médicament se distribue de manière instantanée et homogène. Les transferts de molécules entre les différents compartiments sont décrits par un système d'équations différentielles caractérisées par des constantes et la résolution de ces équations permet de prédire les quantités de médicament présent à un instant donné dans chaque compartiment. En revanche, ces modèles n'ont généralement pas de signification physiologique (Lobet, 2019).

En pratique, le choix d'un modèle par rapport aux autres dépend des objectifs de la modélisation. Une modélisation peut être erronée mais utile alors qu'une autre peut être conforme à la réalité mais peu exploitable du fait de sa complexité.

E. Intérêts de l'étude pharmacocinétique de population

Deux méthodes permettent d'analyser les données de différents individus en **pharmacocinétique classique**.

- Première méthode : l'analyse en deux étapes

Les données de chaque individu sont exploitées de façon indépendante ce qui permet de préciser leurs paramètres pharmacocinétiques propres. L'ensemble de ces paramètres pharmacocinétiques sont alors considérés comme des variables aléatoires. Il est alors possible de calculer une valeur moyenne et de déterminer la variabilité de chaque paramètre. Ces valeurs sont ensuite celles retenues pour la population dont les individus sont extraits. La précision du profil pharmacocinétique de chaque individu dépend du nombre de prélèvements réalisés : plus les prélèvements sont nombreux, plus le profil sera détaillé. De plus, ces prélèvements suivent un protocole précis et identique pour tous les sujets de l'étude. Cette méthode est donc exigeante et souvent complexe à mettre à place. Par ailleurs, la variabilité inter-individuelle est souvent surestimée comme les erreurs d'estimation des paramètres ne sont pas prises en compte.

- Deuxième méthode : le pool de données

Cette méthode regroupe toutes les données issues de différents individus comme si elles provenaient d'un seul individu et les analyse globalement. L'avantage par rapport à la première méthode est qu'il est possible de limiter le nombre de prélèvements par individu. Cependant, cette méthode ne permet de déterminer la variabilité intra et inter-individuelle et est ainsi peu recommandée en analyse pharmacocinétique.

L'**approche de population**, présentée par Sheiner dans les années 1980, permet d'estimer les paramètres pharmacocinétiques moyens et de caractériser la variabilité associée au sein de la population, ainsi que d'évaluer l'influence de différentes caractéristiques individuelles (covariables) sur ces paramètres pharmacocinétiques (Sheiner et Beal, 1983).

Dans cette approche, tous les sujets sont analysés simultanément ce qui permet d'inclure des individus avec des données éparses. L'approche de population est donc parfaitement adaptée à l'analyse de données d'essais cliniques où le nombre de prélèvements par individu est souvent limité avec des schémas de prélèvements souvent variables. En contrepartie, l'échantillon doit être représentatif de la population cible et nécessite l'enregistrement des caractéristiques individuelles biologiques et cliniques (âge, sexe, pathologies, etc.).

Les nouveaux programmes de traitement de données produisent aujourd'hui des analyses de résultats exhaustives. Cela explique que les méthodes par approche de population sont de plus en plus utilisées. Ce type d'analyse considéré comme révolutionnaire dans les années 2000 (Simon N. *et al.*, 2005) occupe désormais une place prépondérante dans l'étude des médicaments.

L'ensemble des avantages et inconvénients de cette approche sont regroupés dans le tableau 3. Une comparaison entre l'approche pharmacocinétique classique et l'approche pharmacocinétique de population est détaillée sur le tableau 4.

Tableau 3 : Avantages et inconvénients de l'analyse pharmacocinétique par approche de population (Simon N. et al., 2005)

Avantages	Inconvénients
Possibilité de réduire le nombre de prélèvements par patients.	Les données issues de données éparses ne permettent pas d'autres type d'analyse. Un échec de l'analyse, toujours à redouter, n'est pas rattrapable, il faut être sûr de son plan expérimental et surtout du choix des temps de prélèvements.
Accessibilité des études pharmacocinétiques aux populations cibles (âges extrêmes, insuffisants rénaux...).	L'effectif d'individus doit être d'autant plus important qu'il y a peu de prélèvements par individu.
Parfaitement adapté à des études de phase III.	Difficultés de réunir pour l'ensemble des patients inclus les informations sur toutes les covariables (surtout si étude sur un grand effectif).
Évaluation de l'influence de covariables sur la variabilité interindividuelle en les incluant dans le modèle.	Analyse complexe dont on ne sait jamais combien de temps elle va durer.
Souplesse dans les temps de prélèvement qui ne doivent plus être tous strictement réalisés au même moment.	La validation du modèle final obtenue est toujours sujette à discussion.
Possibilité d'inclure dans une même analyse des patients ayant : – des voies d'administration différentes, – des doses différentes, – des durées de traitement différentes, – des heures de prélèvement différentes.	Souvent, hypothèse de la distribution unimodale des paramètres pharmacocinétiques.
Parfaitement reconnu par les instances administratives qui gèrent le médicament (FDA, EMEA, AFSSAPS).	Les formations en modélisation de population ne sont pas nombreuses et les logiciels dévolus à ce type d'analyse ne sont pas d'un apprentissage facile.

Tableau 4 : Comparaison des approches « classique » et « de population » lors d'analyse pharmacocinétique (Pastor, 2013)

Analyse PK ou PK/PD classique	Analyse PK ou PK/PD de population
Peu d'individus (ex : N= 12)	Beaucoup d'individus (ex : N= 200)
Population homogène	Population hétérogène (population cible)
Beaucoup de prélèvements par individu	Possibilité d'avoir des prélèvements éparses (ex : 1 ou 2 par individu)
Schéma de prélèvements équilibré, identique pour tous, conditions d'étude standardisées	Nombre et temps de prélèvements pouvant varier d'un individu à l'autre
Ex : Phase I (volontaires sains)	Ex : Phase II/III (patients)
⇒ Analyse individu par individu et statistiques descriptives	⇒ Analyse de tous les individus simultanément

2. Modélisation avec le logiciel Monolix

Le logiciel Monolix permet de construire un modèle pharmacocinétique de population et de déterminer les différents paramètres ou covariables à l'origine de variabilités interindividuelles. Son fonctionnement est basé sur l'exploitation de différentes mesures de concentrations plasmatiques chez différents individus. Dans cette partie sont détaillées les différentes étapes de fonctionnement du logiciel, qui seront appliquées par la suite lors de l'exploitation des résultats de la partie expérimentale (Partie III).

Source : <http://monolix.lixoft.com/case-studies/remifentanil-case-study/> (Monolix, 2018)

A. Entrée des données sur Datxplore

La première étape consiste à préciser sur Datxplore les caractéristiques des administrations de la molécule d'intérêt (moment de l'administration, dose), les moments des prélèvements, les concentrations associées et enfin les différentes particularités des individus prélevés (pathologies, âge, sexe, *etc.*).

L'entrée de ces données permet d'obtenir une allure grossière de la courbe de concentration en fonction du temps et donc de la pharmacocinétique globale du médicament selon de potentielles covariables.

Ces premières courbes permettent de prédire la complexité du modèle structural à utiliser (modèle simple ou pluri-compartmental) et d'identifier les potentielles covariables. Des corrélations entre les différentes covariables peuvent également être suspectées.

B. Construction du modèle pharmacocinétique à l'aide de la bibliothèque

a. Définition du modèle structurel

L'étape suivante consiste à définir un modèle structurel compartimental parmi les options proposées dans la bibliothèque du logiciel en se basant sur les hypothèses émises après l'exploitation des données sur Datxplore.

L'utilisateur choisit le mode d'administration pour caractériser l'absorption du produit (voie intraveineuse, voie orale, voie extravasculaire ou mixte), puis

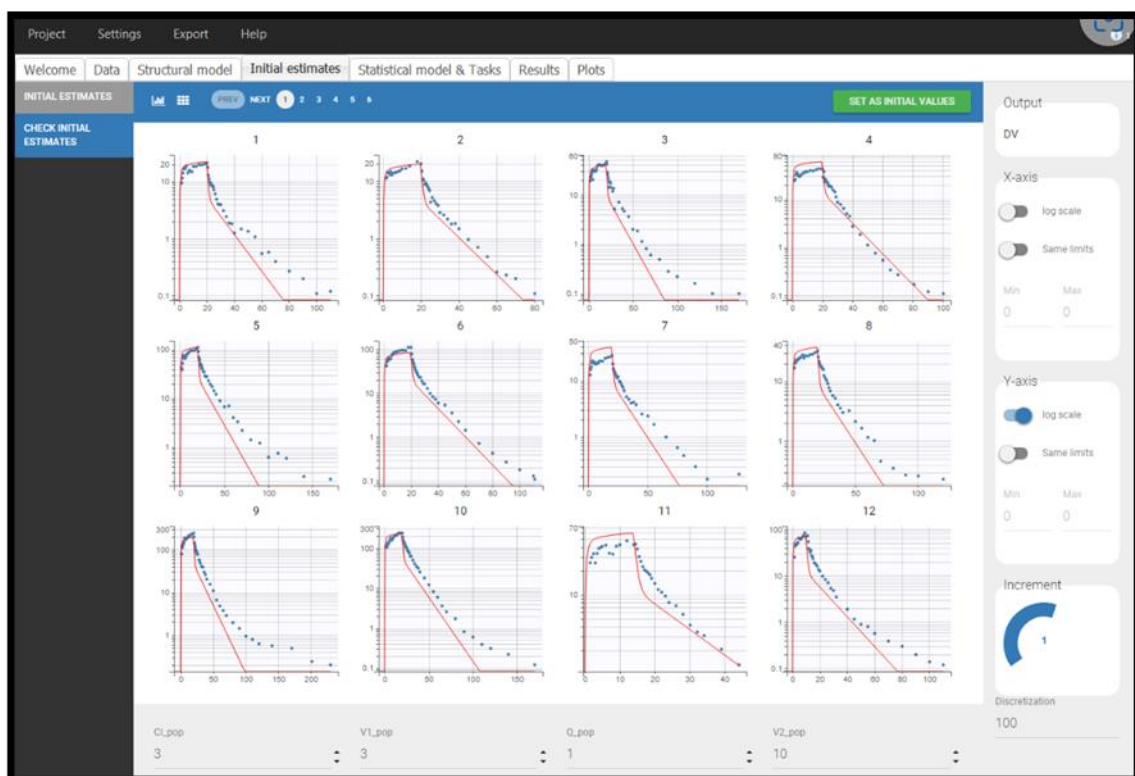
sélectionne le nombre de compartiments (jusqu'à trois) pour caractériser la distribution et enfin le type d'élimination (linéaire ou non).

b. Estimations initiales des paramètres pharmacocinétiques

L'objectif de cette étape est d'estimer les valeurs des paramètres pharmacocinétiques du modèle choisi pour lesquelles le modèle créé se rapproche le plus de la courbe de données brutes (voir figure 17).

Afin de proposer des valeurs initiales les plus justes possibles, il est possible d'obtenir dans un premier temps des approximations de ces paramètres par une analyse pharmacocinétique non compartimentale.

Figure 17 : Choix des paramètres pharmacocinétiques ajustés en comparant les observations individuelles (courbes bleues) et la courbe issue du modèle pharmacocinétique de population ajusté pour chaque individu (courbes rouges)



Monolix évaluera ensuite ces paramètres ajustés, il est donc important de rentrer dans le logiciel des valeurs les plus vraisemblables possibles.

c. Définition du modèle statistique

L'onglet « Modèle statistique & Tâches » peut ensuite être utilisé pour ajuster le modèle statistique. A cette étape, les corrélations potentielles entre les différents paramètres ne sont pas considérées.

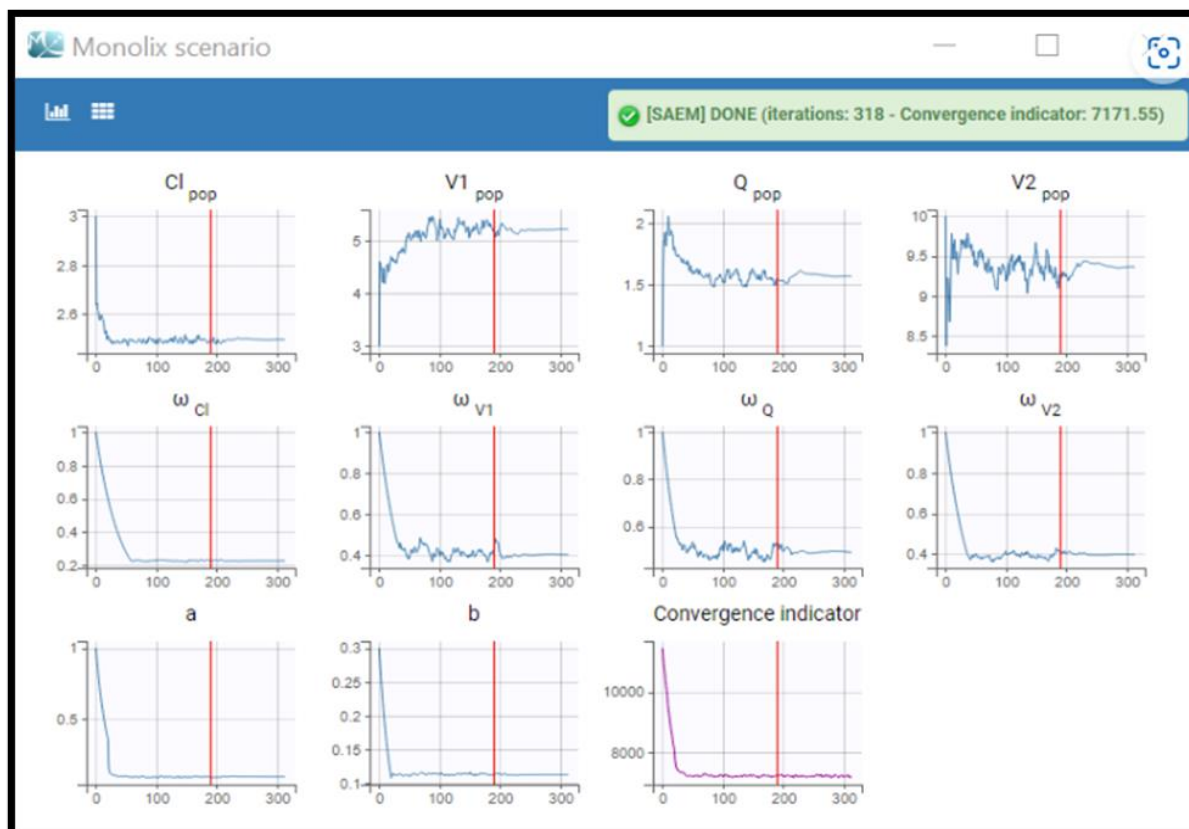
C. Ajustement du modèle structurel

a. Estimation des paramètres de population par la méthode SAEM

L'estimation des paramètres pharmacocinétiques de population du logiciel Monolix repose sur une méthode stochastique basée sur l'algorithme SAEM (Stochastic Approximation Expectation Maximization).

Lorsque ce programme d'estimation est lancé, une fenêtre affiche les estimations de paramètres issues des différentes itérations de l'algorithme ainsi que l'indicateur de convergence (c'est-à-dire la confiance sur les valeurs estimées) sous forme de graphiques (figure 18).

Figure 18 : Estimations des paramètres pharmacocinétiques et de leurs variances respectives et détermination de l'indicateur de convergence sous la forme de graphiques



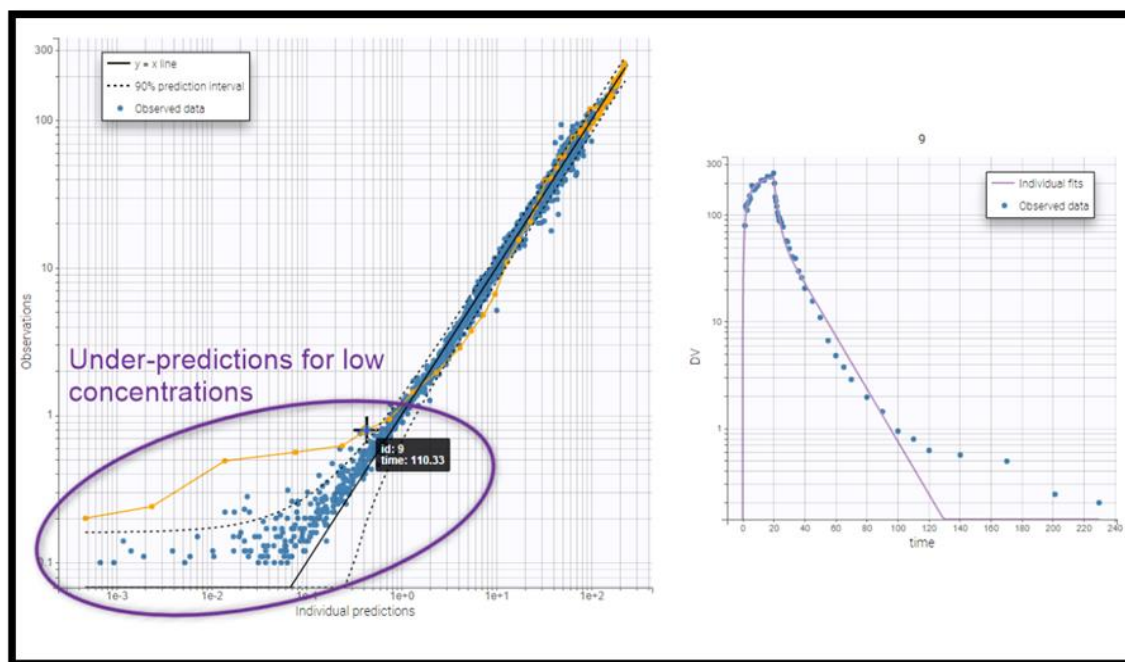
Les valeurs estimées peuvent ensuite être trouvées dans l'onglet « Résultats ». Les valeurs des paramètres pharmacocinétiques et leurs variances respectives y sont affichés sous la forme d'un tableau.

b. Évaluation du modèle grâce aux tracés diagnostiques

La tâche "Plots" rend possible l'évaluation du modèle estimé grâce à des tracés diagnostiques qui permettent une comparaison entre les données réelles observées et celles prédites par le modèle (voir figure 19).

En cas d'inadéquation entre le modèle estimé et les données réelles, il convient de choisir un modèle pharmacocinétique différent en répétant toutes les étapes précédemment décrites afin d'ajuster au mieux le tracé diagnostique. De façon générale, le modèle estimé est à modifier lorsque le tracé des valeurs réelles ne semble pas réparti de manière symétrique de part et d'autre du tracé des valeurs prédites par le logiciel (distribution normale des erreurs résiduelles).

Figure 19 : Graphique de gauche, concentrations réelles observées (en bleu) et tracé des concentrations estimées (en orange). Graphique de droite, tracé des valeurs individuelles observées (en bleu) et prédites (en violet) au cours du temps.



À titre d'exemple, sur la figure 19, on constate un écart important entre les prédictions du logiciel et les valeurs réelles. Un changement de modèle est dans ce cas requis pour un meilleur ajustement.

D. Ajustement du modèle statistique

Une fois le modèle structurel correctement adapté, les paramètres individuels peuvent être déterminés afin de préciser le modèle statistique.

a. Estimation des paramètres individuels

Les paramètres individuels sont estimés avec la tâche « EBEs » (Empirical Bayes Estimate) qui permet de calculer la distribution des paramètres individuels pour chaque individu.

Les valeurs affichées correspondent alors aux paramètres individuels les plus probables. La tâche « Distribution conditionnelle » permet ensuite l'estimation de la distribution conditionnelle des paramètres individuels grâce à un échantillonnage d'une série de valeurs à l'aide de la procédure « Markov Chain » de Monte Carlo.

b. Estimation des erreurs standards pour les paramètres estimés

Les erreurs standards des paramètres estimés sont ensuite calculées grâce à la tâche « Standard error ».

Les erreurs standards associées aux différents paramètres pharmacocinétiques peuvent alors être affichées dans la section « Pop param ». A ce stade, il est intéressant de vérifier que les paramètres présentent des erreurs standards raisonnables signifiant qu'ils sont estimés avec un bon niveau de confiance.

c. Estimation du « Log-Likelihood »

La valeur du « Log-Likelihood » correspond à une mesure permettant d'apprécier la qualité d'ajustement du modèle et donc sa vraisemblance. Il s'agit d'une fonction complexe du logiciel Monolix qui ne sera pas détaillée ici.

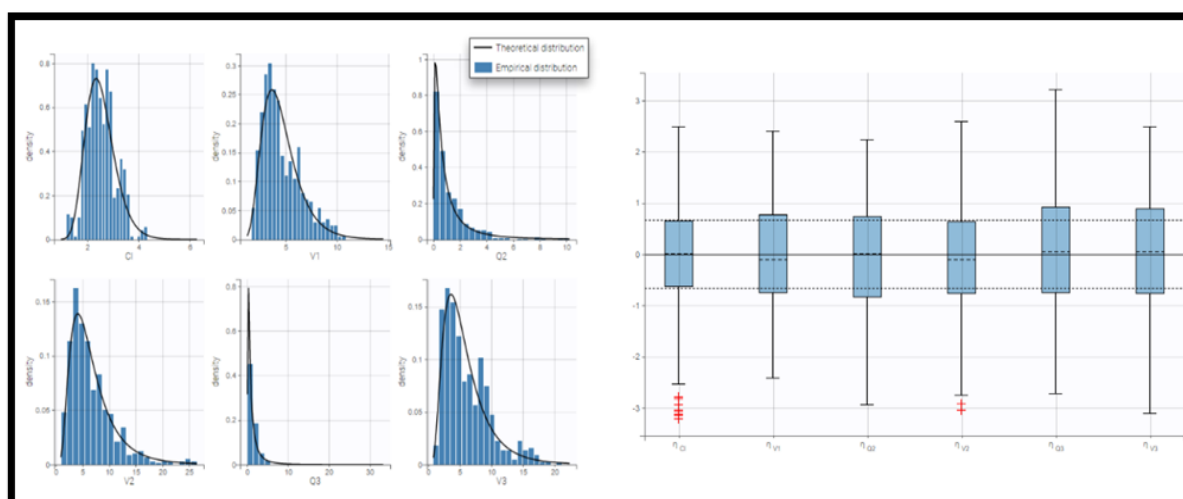
Cette valeur sera utilisée par la suite afin de comparer différents modèles avec différentes covariables. On retiendra que plus la valeur du « Log-Likelihood » du modèle considéré est élevée, plus celui-ci sera adapté aux données réelles observées.

d. Réévaluation du modèle grâce aux graphiques de distribution des paramètres individuels et de distribution des écarts aléatoires standards

Cette étape permet de vérifier l'absence d'incohérence entre la distribution des paramètres individuels estimés et la distribution théorique de chaque paramètre.

La distribution des paramètres individuels estimés se présente sous la forme d'un histogramme associé à la courbe de distribution théorique pour chacun des paramètres. Le deuxième type de graphiques affichés représente les écarts aléatoires standards des différents paramètres étudiés sous la forme de diagrammes en boîte (Figure 20). Il est attendu que les écarts aléatoires standards suivent une distribution normale centrée réduite.

Figure 20 : À gauche, histogrammes de la distribution des différents paramètres individuels et courbes de la distribution théorique de chaque paramètre. À droite, diagrammes en boîte des écarts aléatoires standards de chaque paramètre.



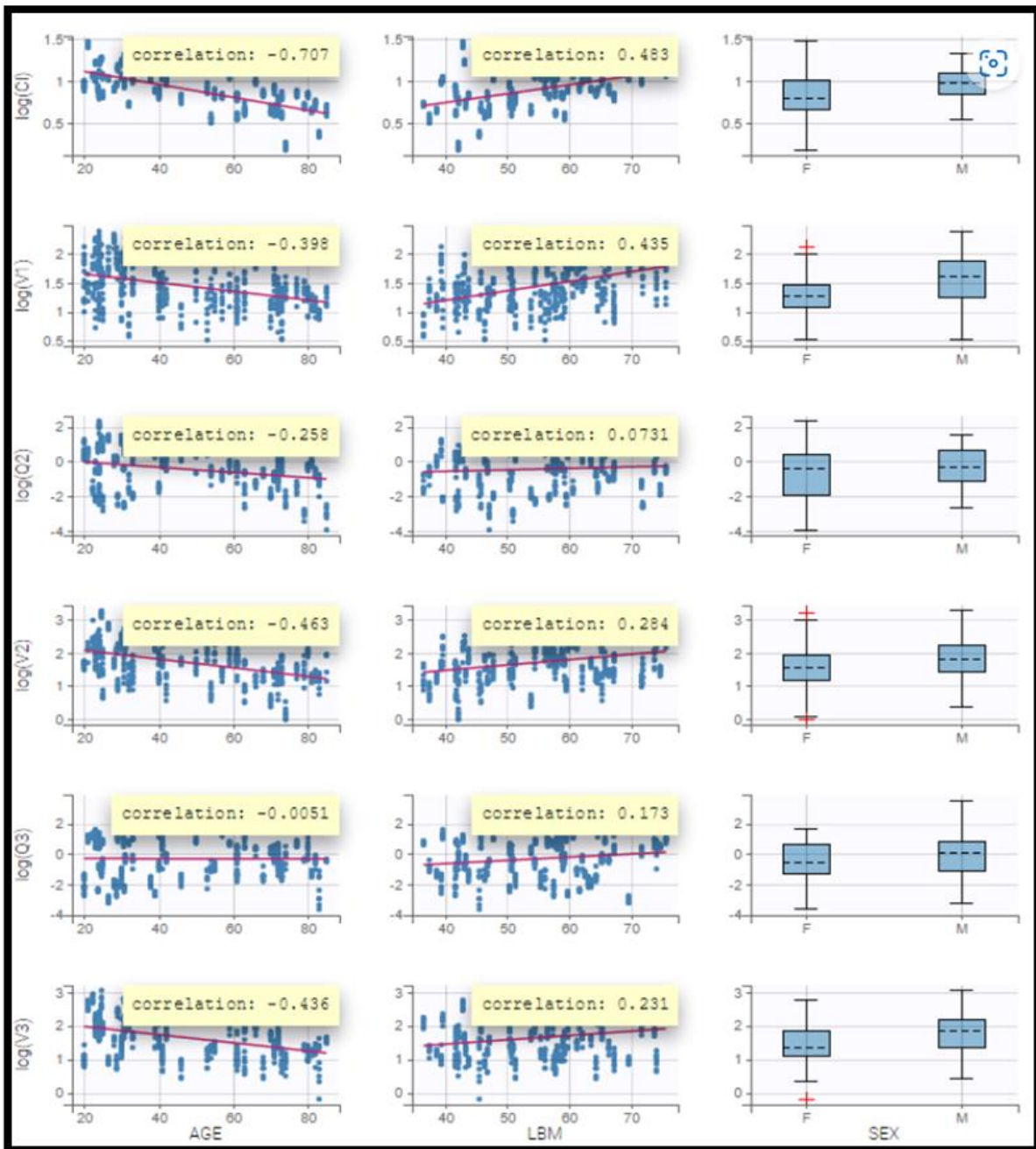
E. Inclusion des covariables dans le modèle statistique

a. Recherche de covariables

La variabilité interindividuelle inexpliquée peut être réduite par l'inclusion de covariables dans le modèle pharmacocinétique de population.

Monolix permet de tester les différentes covariables suspectées, une par une, avec des tracés particuliers (voir figure 21) permettant de mettre en évidence une corrélation significative ou non entre les paramètres individuels et la covariable considérée. Le coefficient de corrélation est affiché. Il s'agit d'une valeur sans unité comprise entre -1 et 1, plus sa valeur est proche de zéro, plus la corrélation est faible.

Figure 21 : Evaluation de la corrélation entre les paramètres individuels et les covariables suspectées (notées dans l'exemple : AGE, LBM, SEX)



Si la corrélation est significative entre une covariable et un paramètre, on peut ensuite appliquer cette covariable dans le modèle individuel en cliquant sur l'onglet « Formule ». Une relation entre le paramètre et la covariable s'affiche alors avec un nouveau paramètre individuel β qui doit maintenant être déterminé.

b. Évaluation du modèle de covariables

Pour estimer ce nouveau paramètre β et évaluer le nouveau modèle, l'utilisateur relance une par une les étapes expliquées précédemment : estimation des paramètres de population, estimation des paramètres individuels puis estimation des erreurs standards et affichage des graphiques.

Au moment de l'estimation des erreurs standards, un test de Wald est réalisé pour vérifier que le paramètre β est significativement différent de 0, c'est-à-dire que la relation entre le paramètre et la covariable est réelle. Cette méthode est ensuite répétée autant de fois que nécessaire afin d'ajouter les différentes covariables d'intérêt au modèle.

c. Recherche de corrélations entre les effets aléatoires

Les corrélations entre les paramètres individuels peuvent être introduites dans le modèle en tant que corrélations linéaires entre les effets aléatoires, qui sont normalement des variables aléatoires distribuées.

Ces corrélations peuvent être identifiés pour chaque paire d'effets aléatoires avec les valeurs des p-values des tests de corrélation de Pearson dans la section « Tests » et sur les diagrammes « Corrélations entre effets aléatoires » où les coefficients de corrélation peuvent être affichés sur des nuages de points.

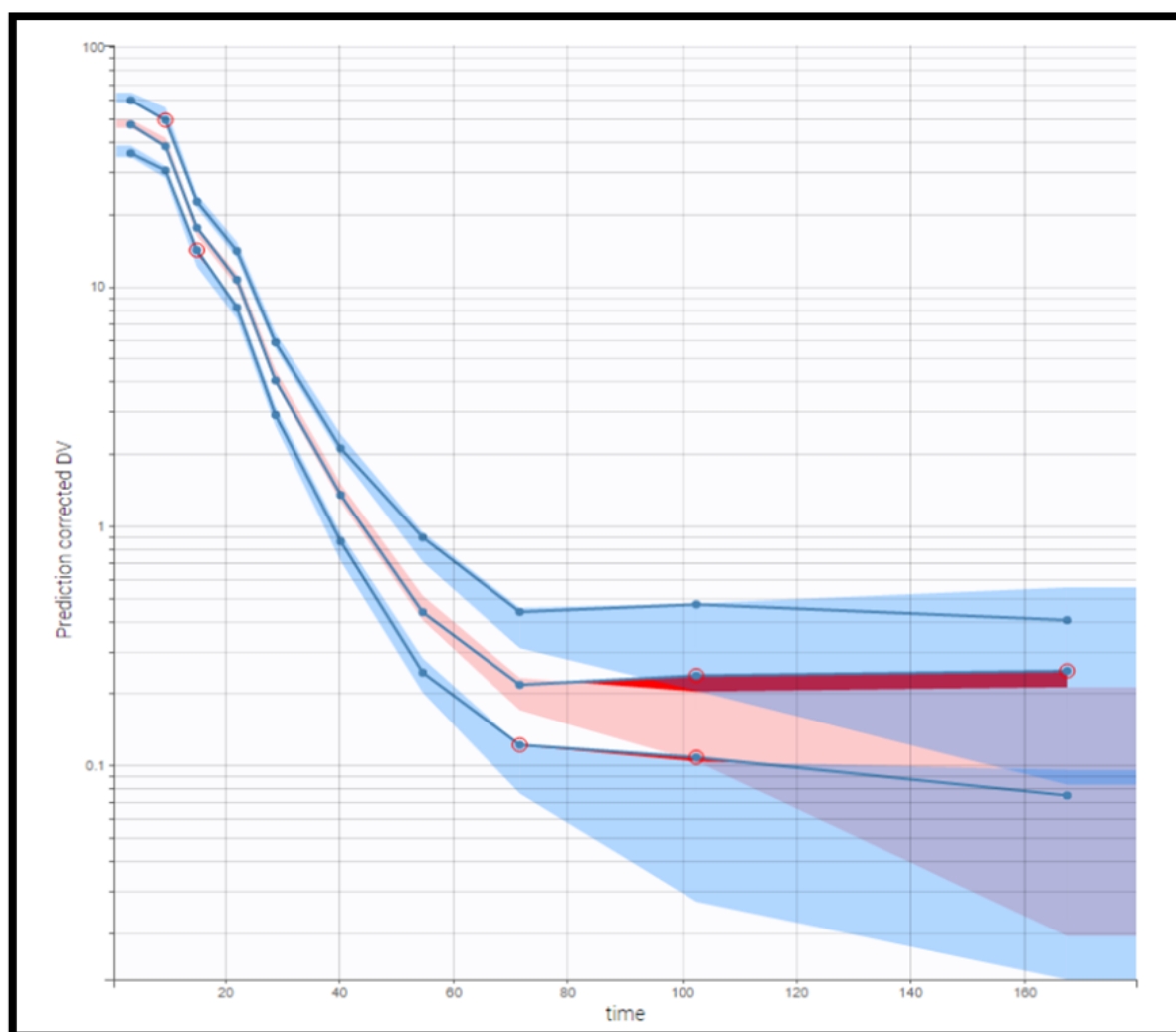
De la même façon que l'on prend en compte certaines covariables en les ajoutant au modèle une par une, on ajoute au modèle les corrélations entre les paramètres individuels les plus pertinentes au fur et à mesure.

F. Évaluation finale du modèle pharmacocinétique

Pour effectuer une évaluation finale de notre modèle, le logiciel utilise la méthode VPC (Visual Predictive Check).

Cette méthode repose sur de multiples simulations à l'aide du modèle estimé et les données réelles observées. Il s'agit d'un outil intéressant et intuitif pour vérifier graphiquement si les différentes simulations du modèle sont cohérentes à la fois avec la tendance centrale et la variabilité des données observées. Si le modèle est correct, les percentiles observés doivent être proches des percentiles prédits et donc rester dans les intervalles de prédiction correspondants. Par défaut, ces intervalles de prédiction sont calculés avec un niveau de confiance de 90%.

Figure 22 : Représentation graphique de l'évaluation du modèle estimé grâce à la méthode VPC



Sur la figure 22, la médiane et les 10^e et 90^e centiles des données observées sont représentés par les courbes bleues qui peuvent être comparées aux plages oranges et bleues correspondant aux intervalles de prédiction du logiciel. Les écarts anormaux sont représentés par les zones colorées en rouge.

G. Synthèse

Le logiciel Monolix est un outil utile et intuitif pour construire un modèle pharmacocinétique de population.

Chaque étape de modification du modèle est guidée par des graphiques et des tests statistiques pour vérifier l'exactitude des estimations. Ce logiciel permet également de rechercher et de prendre en compte les différentes covariables d'intérêt.

Troisième partie expérimentale : Étude de la pharmacocinétique de l'ampicilline chez le chien grâce à la pharmacocinétique des populations (AntibioPop)

1. Introduction et objectif de l'étude

Le risque lié à l'antibiorésistance représente actuellement un enjeu majeur de santé publique en médecine humaine et vétérinaire.

Cette menace est notamment liée à une utilisation parfois trop systématique de ces molécules et/ou à des doses inadaptées. Afin de limiter le risque de développement de résistances bactériennes en médecine vétérinaire, il est donc important de rationaliser les usages de prescription des antibiotiques chez l'animal et notamment au travers d'une réflexion autour de l'optimisation des posologies utilisées. Cet élément constitue d'ailleurs l'un des axes du plan national (Écoantibio 2) de réduction des risques d'antibiorésistance en médecine vétérinaire.

Chez le chien, l'ampicilline (en association avec son inhibiteur des bêta-lactamases, le sulbactam) est aujourd'hui la molécule antibiotique la plus administrée à l'EnvA, notamment en soins intensifs (Kitsos, 2020). Néanmoins, les résistances à l'ampicilline et l'amoxicilline constituent une préoccupation majeure et on estime que 35% de souches d'*Escherichia coli* sont non sensibles aux pénicillines A dans le cadre, par exemple, des infections urinaires chez les carnivores domestiques en France (ANSES, 2022).

Il n'existe à l'heure actuelle aucune spécialité injectable par voie intraveineuse contenant de l'ampicilline (associée ou non au sulbactam) autorisée chez le chien. Pour cette raison, la majeure partie des prescriptions d'ampicilline à l'EnvA concernent une spécialité humaine, l'Unacim® indiquée pour le traitement des infections à germes sensibles aux pénicillines A par voie intraveineuse.

Néanmoins, les données pharmacocinétiques relatives à cette molécule chez le chien sont mal connues et les doses sont souvent déterminées empiriquement. En effet, les études pharmacocinétiques de l'ampicilline chez le chien sont peu nombreuses et ne reposent que sur une approche traditionnelle de prélèvements chez des chiens de laboratoire. Une étude réalisée en 1990 sur dix chiens Beagle, avec des prélèvements de plasma suite à l'injection de 15 mg/kg d'ampicilline par

voie intraveineuse, a permis d'approximer certains paramètres PK/PD dans le cadre d'un modèle bi-compartimental. Les paramètres de volume de distribution, clairance et temps de demi-vie ont ainsi été évalués (Ten Voorde *et al.*, 1990). Plus récemment, (Britzi *et al.*, 2014) ont estimé le volume de distribution, la clairance et le temps de demi-vie de l'ampicilline suite à une injection intraveineuse de 20 mg/kg de la molécule chez six chiens Beagle et l'application d'une approche non-compartimentale. Ces résultats étaient comparables à ceux précédemment rapportés (Tableau 5).

Tableau 5 : Études portant sur les paramètres PK/PD de l'ampicilline chez le chien

Étude	Ten Voorde <i>et al.</i> (1990)	Britzi <i>et al.</i> (2014)
Modèle	bi-compartimental	non compartimental
Volume de distribution	0.679 L/kg	0.275 ± 0.044 L/kg
Clairance	6.45 ± 1.35 mL/min/kg	4.53 ± 0.70 mL/min/kg
T _{1/2}	81 ± 41.4 min	111 (85-169) min

Aucune étude de terrain de la pharmacocinétique de l'ampicilline chez le chien n'est donc actuellement publiée dans la littérature. Les seules études de pharmacocinétique ont été réalisées chez des chiens de laboratoire et ne permettent pas de rendre compte de la variabilité pharmacocinétique pouvant être rencontrée chez les animaux de propriétaires. Face à ce constat, il semble aujourd'hui important de conduire une étude permettant de déterminer plus précisément le profil pharmacocinétique de l'ampicilline par voie intraveineuse afin d'en réévaluer la posologie et d'optimiser les chances de réussite du traitement chez le chien afin, *in fine*, de limiter le risque d'apparition de résistances.

D'autre part, cette molécule est aussi très utilisée pour le traitement des infections à germes sensibles mais aussi en prévention des infections per-chirurgicales. Suivant l'état physiopathologique de l'animal, il est possible que différents facteurs puissent influencer le comportement pharmacocinétique de cette molécule, comme le fait de recevoir une perfusion ou la dépression cardiovasculaire induite par une anesthésie générale.

L'objectif de cette étude (projet AntibioPop) est donc de décrire la pharmacocinétique de l'ampicilline chez le chien de propriétaire en comparant par la méthode de population, la pharmacocinétique chez le chien lors d'une hospitalisation classique et chez le chien anesthésié.

2. Matériels et méthodes

Les recrutements des animaux ont été réalisés au sein du service des hospitalisations et d'anesthésie avec le consentement des propriétaires qui ont été informés notamment grâce à une fiche d'information mise à leur disposition (Annexe 2). L'ensemble de ces protocoles a été approuvé par le comité d'éthique de recherche clinique (COMERC, numéro 2022-03-08) de l'EnvA.

A. Critères d'exclusion et d'inclusion de l'étude

Les animaux présentant des antécédents connus d'allergie aux pénicillines ou une dysfonction rénale marquée ont été exclus de l'étude. Si les animaux avaient déjà reçu de l'ampicilline (par voie parentérale ou orale) avant le début de l'inclusion, cette administration était précisée.

L'administration concomitante d'autres antibiotiques, d'anti-inflammatoires, *etc.* ne constituait pas un critère d'exclusion mais a été documentée précisément.

Les animaux inclus dans l'étude étaient des chiens de plus de 6 mois hospitalisés à l'EnvA et présentant une affection pour laquelle l'administration intraveineuse d'une association ampicilline sulbactam était indiquée (Groupe CHENIL). Un deuxième autre groupe d'animaux était constitué d'animaux recevant une chirurgie au cours de laquelle l'administration préventive d'ampicilline sulbactam par voie intraveineuse était indiquée dans le contexte de l'antibioprophylaxie chirurgicale (Groupe ANESTHESIE).

B. Description de la séquence de prélèvements

La séquence de prélèvements de sang était déterminée précisément en amont.

Les animaux hospitalisés au chenil ont reçu une injection de 20 mg/kg d'ampicilline sulbactam toutes les 8 heures (schéma thérapeutique usuel). Après la première administration d'ampicilline, une série de trois à quatre prélèvements sanguins de 1 à 2 ml chacun était réalisée à la veine jugulaire ou saphène externe :

5 minutes environ après l'administration, puis régulièrement pendant les 2-3 premières heures suivant l'injection d'ampicilline. Les animaux ayant déjà reçu de l'ampicilline avant leur inclusion dans l'étude ont été prélevés juste avant l'injection d'ampicilline sulbactam de manière à documenter les concentrations résiduelles.

Pour le traitement à l'ampicilline au cours de l'anesthésie, le schéma thérapeutique consistait en une administration toutes les 1h30 de la molécule par voie intraveineuse lente. Dans ce cas, l'animal subissait un prélèvement de 1 à 2 ml de sang 5 minutes environ après la première administration puis au cours de la première heure et juste avant la seconde administration.

Le temps précis de chaque prélèvement a été noté pour l'analyse pharmacocinétique ultérieure.

C. Traitement et dosage des prélèvements sanguins

Les échantillons de sang collectés sur tube hépariné étaient immédiatement centrifugés, le plasma était récupéré et stocké à -80°C jusqu'au dosage.

Les concentrations d'ampicilline ont ensuite été déterminées au sein du laboratoire de pharmacologie du centre hospitalier universitaire Henri Mondor par chromatographie liquide haute performance couplée à une détection UV-BAD, par une méthode validée selon les recommandations internationales (FDA et EMA). Ce laboratoire est accrédité par le Comité Français d'Accréditation (COFRAC) pour les techniques chromatographiques. La forme totale d'ampicilline, comprenant la fraction libre (forme pharmacologiquement active) et la fraction liée aux protéines plasmatiques, était dosée pour chaque prélèvement.

3. Résultats

La construction du modèle pharmacocinétique a été réalisée pour chacun des groupes à l'aide du logiciel spécifique Monolix.

L'ensemble des concentrations plasmatiques recueillies pour chaque animal a été implémenté dans le logiciel ainsi que le temps précis de prélèvement associé.

Au total, vingt chiens ont été recrutés et inclus dans cette étude sur la période de mai 2022 à mars 2023. Leurs caractéristiques propres sont résumées dans le tableau 6. Chacun de ces individus ont reçu au moins une injection d'ampicilline sulbactam par voie intraveineuse. Vingt-quatre suivis post-injections ont été réalisés

avec un total de 84 prélèvements. Les résultats des dosages associés ont été rassemblés sur un tableau Excel exploitable par Monolix.

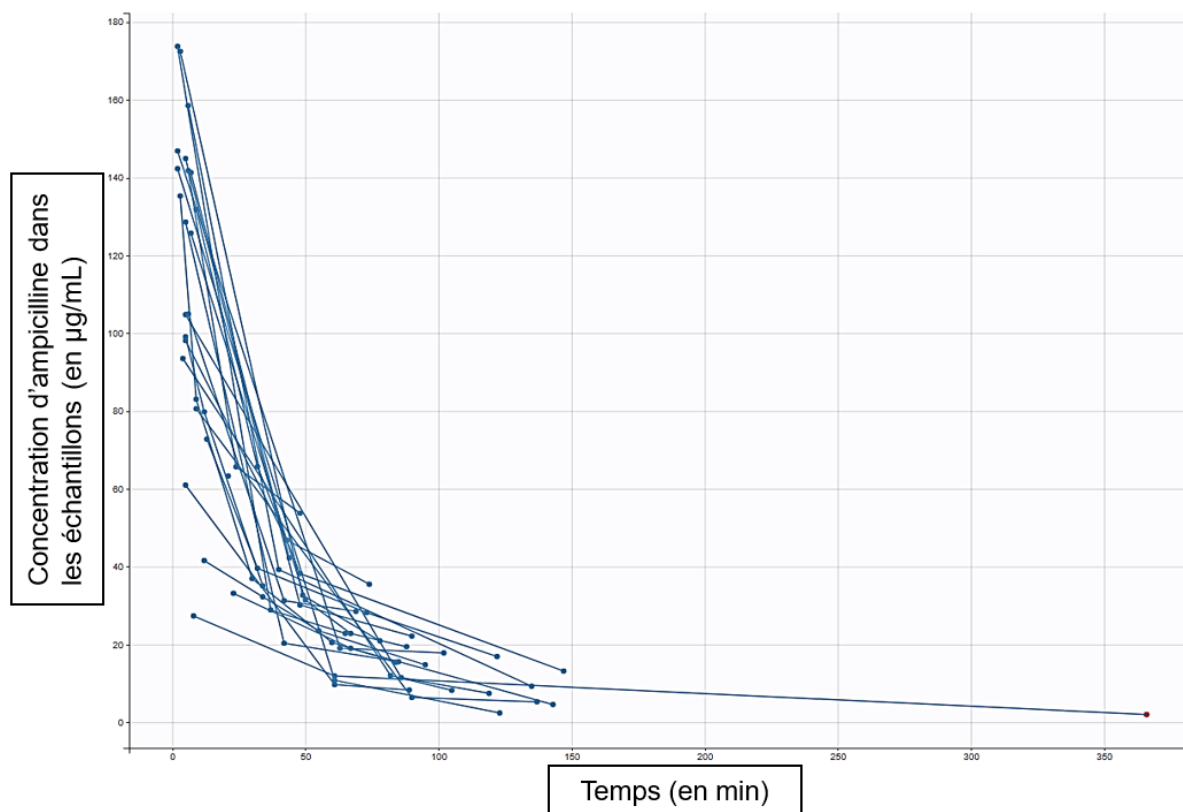
Tableau 6 : Tableau récapitulatif des cas de l'étude AntibioPop

Numéro d'inclusion	Poids (kg)	Sexe Mâle castré = MC Mâle entier = M Femelle castrée = FC Femelle entière = F	Date de naissance	Date d'inclusion	Service d'inclusion	Pathologie	Débit de perfusion (mL/kg/h)
1	6.7	MC	02/03/2014	18/05/2022	Anesthésie	Cystotomie	5
2	21.2	F	07/04/2022	18/05/2022	Anesthésie	Retrait du processus anconé	5
3	3.2	M	17/11/2016	19/05/2022	Anesthésie	Ostéotomie de nivellement du plateau tibial (TPLO)	5
4	36	M	22/11/2013	07/09/2022	Anesthésie	Exérèse de masses cutanées (hypothyroïdie et pyodermite)	5
5	25	M	30/06/2019	08/09/2022	Anesthésie	Castration	5
6	12.1	F	02/06/2021	14/09/2022	Anesthésie	Ovariectomie	5
7	28.5	M	14/07/2010	14/09/2022	Anesthésie	TPLO	5
8	11	FC	14/09/2020	15/09/2022	Anesthésie	Prothèse tibiale	5
9	20.7	MC	21/05/2015	07/02/2023	Hospitalisation Chirurgie	Plaies de morsure	0
10	52	M	02/04/2021	10/02/2023	Anesthésie (Ophtalmologie)	Entropion	5
11	42	M	24/08/2014	10/02/2023	Hospitalisation Chirurgie	Ostéosarcome	0
12	11	F	09/01/2013	13/03/2023	Anesthésie	Exérèse chaîne mammaire droite	5
13	9	M	11/09/2009	20/03/2023	Hospitalisation Chirurgie	Plaie périanale	2
14	14	MC	01/09/2015	20/03/2023	Hospitalisation Chirurgie	Chirurgie auriculaire avec bullotomie (TECALBO)	2
15	4	MC	14/01/2015	23/03/2023	Hospitalisation Chirurgie	Exérèse tête col du fémur	2
16	35	M	02/07/2014	23/03/2023	Hospitalisation Chirurgie	Chirurgie auriculaire (TECA)	2
17	32.2	F	17/09/2017	28/03/2023	Hospitalisation Chirurgie	Ablation du matériel d'ostéosynthèse après TPLO	0
18	60	M	27/04/2021	29/03/2023	Hospitalisation Chirurgie	Sérome	2
19	8.1	M	17/08/2021	29/03/2023	Hospitalisation Chirurgie	Entérotomie sur corps étranger	2
20	11.4	FC	06/09/2015	30/03/2023	Hospitalisation Chirurgie	Cystotomie	2

A. Entrée des données sur Datxplore et premières hypothèses

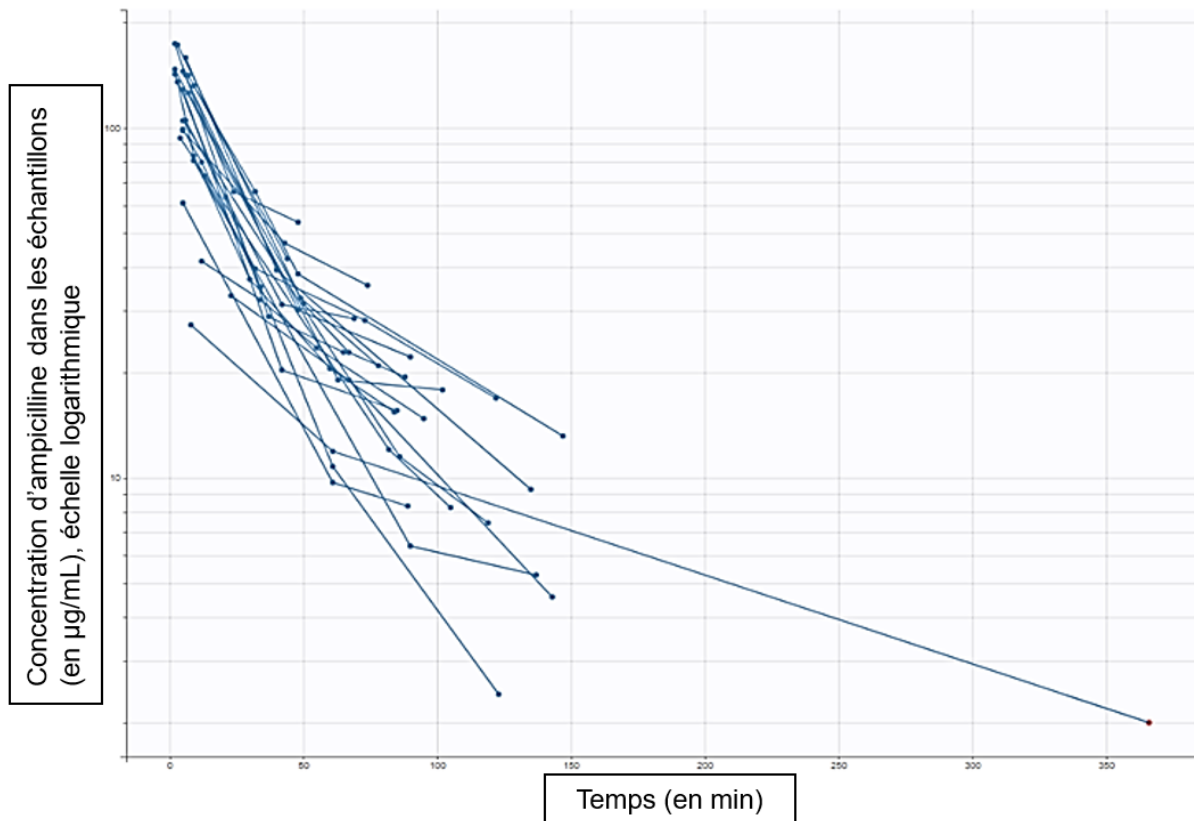
Tout d'abord, les données ont été rentrées sur Datxplore pour permettre de visualiser les tracés expérimentaux (Figure 23).

Figure 23 : Graphique représentant les tracés reliant les points correspondant aux résultats des dosages d'ampicilline en fonction du temps pour chaque suivi post-injection



En échelle logarithmique, ces différents tracés se rapprochaient d'une droite décroissante à deux pentes ou fonction affine par morceaux (Figure 24). L'hypothèse d'un modèle bi-compartimental était ainsi retenue pour la suite de l'analyse.

Figure 24 : Tracés reliant les points correspondant aux résultats des dosages d'ampicilline en fonction du temps pour chaque suivi post-injection (échelle logarithmique pour l'axe des ordonnées)



B. Choix du modèle structural

Le modèle structural a ensuite été établi sur Monolix et il présentait les caractéristiques suivantes :

- L'administration du produit est intraveineuse sous forme de bolus. La durée d'administration de la molécule n'est pas prise en compte car elle est considérée comme instantanée.
- Le modèle pharmacocinétique choisi est un modèle bi-compartimental.
- L'élimination du produit est linéaire.

Le modèle d'erreur résiduelle choisi pour les concentrations était un modèle proportionnel :

$$C_{\text{obs},i} = C_{\text{pred},i} + b \cdot \varepsilon$$

Avec $C_{obs,i}$ et $C_{pred,i}$ les concentrations observées et prédites pour l'individu i , b le coefficient d'erreur et ε la variabilité individuelle.

Les paramètres du modèle choisi étaient la clairance totale (Cl), le volume de distribution du compartiment central (V1), le volume de distribution du compartiment périphérique (V2) et clairance inter-compartmentale (Q).

La variabilité inter-individuelle de chacun de ces paramètres pharmacocinétiques a été décrite par un modèle lognormal :

$$P_i = P_{pop} e^{\eta_{pi}}$$

Avec P_i représentant le paramètre pharmacocinétique individuel, P_{pop} la valeur typique ou centrale de population et η_{pi} l'effet aléatoire distribué normalement et qui représente la déviation de la valeur centrale dans la population.

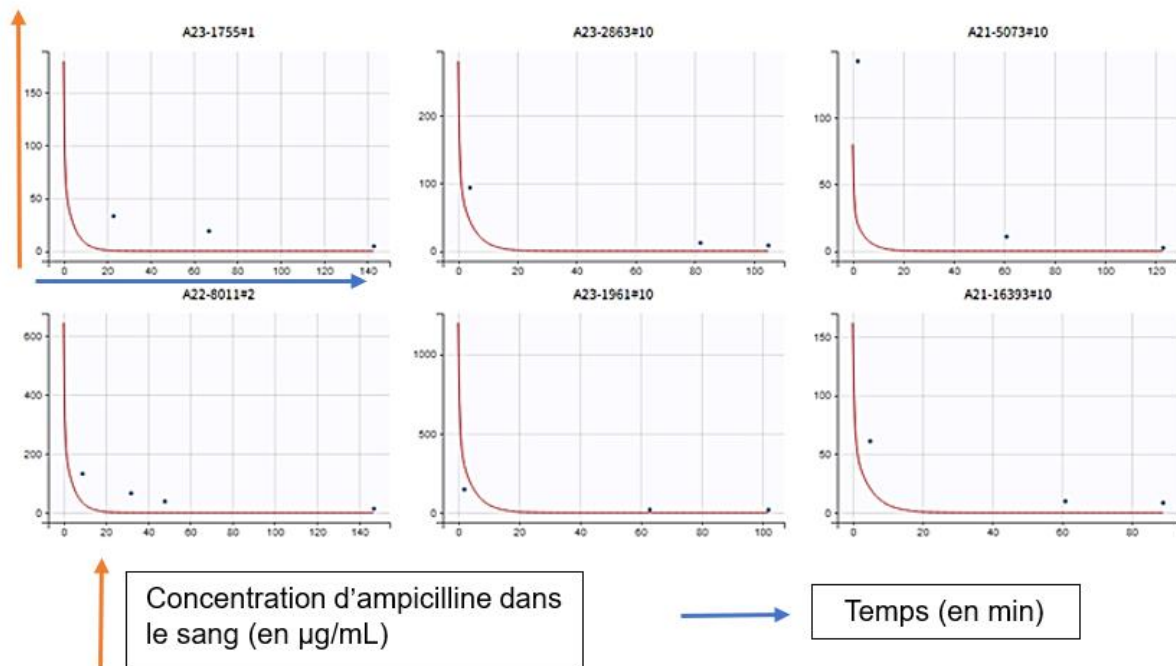
Compte-tenu du faible nombre d'individus étudiés et de la variabilité observée pour les volumes de distribution des différents compartiments (V1 et V2), les effets aléatoires inter-individuels n'ont été modélisés que pour la clairance totale (Cl) et la clairance intercompartmentale (Q).

C. Estimation des paramètres pharmacocinétiques de population

Une fois le modèle structural établi, les paramètres pharmacocinétiques de population initiaux ont été ajustés manuellement.

L'objectif était que la courbe rouge (Figure 25), correspondant à la courbe initiale de pharmacocinétique de population estimée, se rapproche avec les points d'observation de chaque animal.

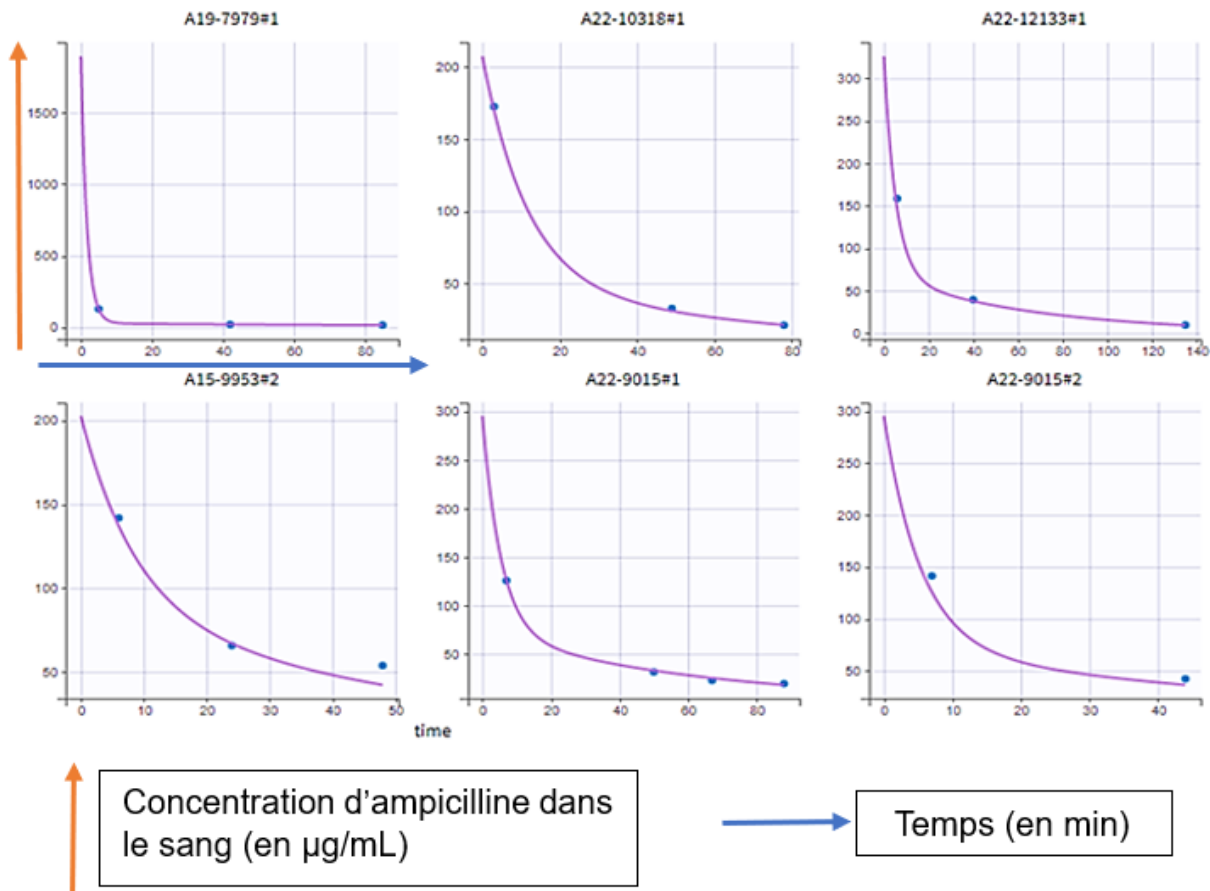
Figure 25 : Graphiques représentant la courbe de pharmacocinétique de population ajustée (en rouge) et les données individuelles observées (points bleus)



Une approximation stochastique des paramètres de population a ensuite été obtenue grâce à l'algorithme SAEM intégré dans le logiciel. Les différents paramètres du modèle (la clairance, le volume de distribution du compartiment central et périphérique et la clairance inter-compartmentale) ont ainsi été estimés avec davantage d'exactitude.

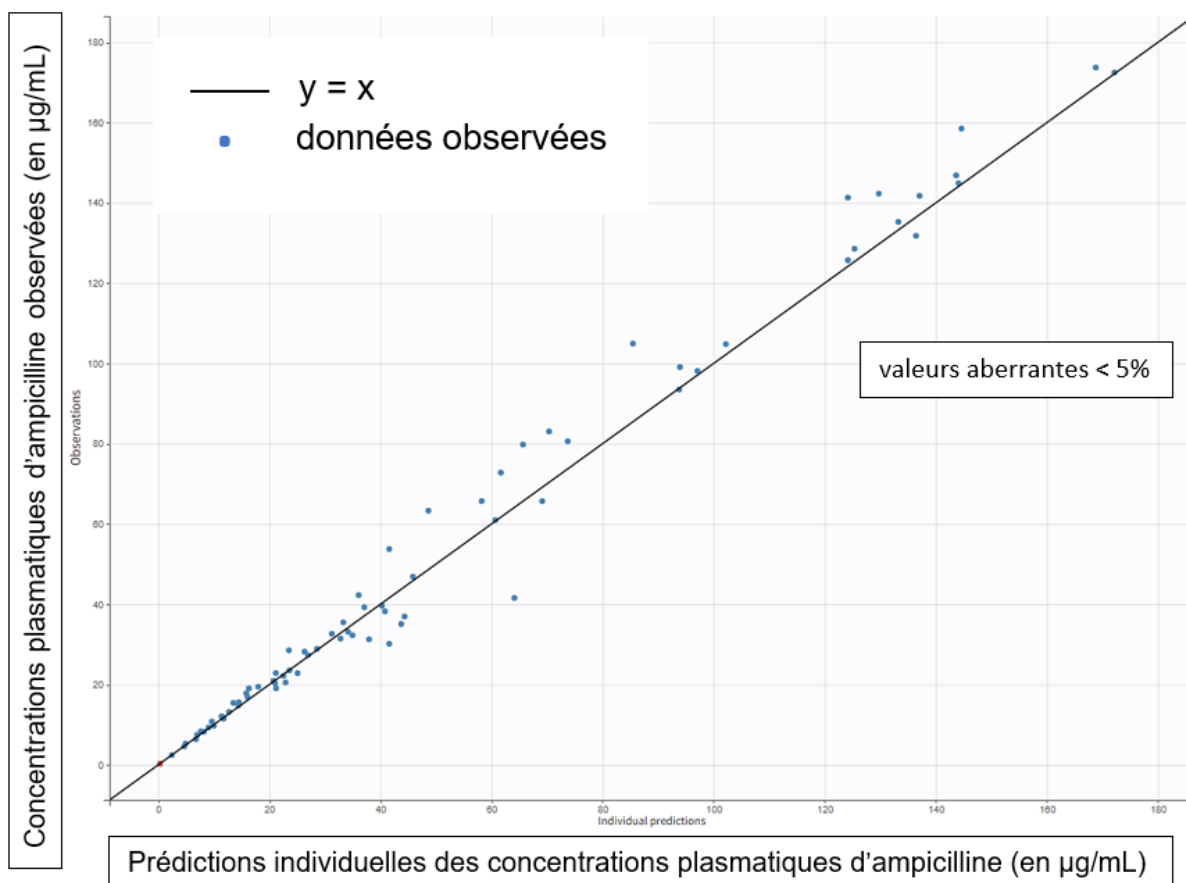
Comme on peut le constater sur la figure 26, les courbes de prédiction individuelles du modèle étaient alors plus proches des données individuelles observées.

Figure 26 : Courbes de prédiction individuelles (en violet) après utilisation de l'algorithme SAEM et données individuelles observées (points bleus) pour chaque suivi obtenu après injection d'ampicilline



De plus, la figure 27 révèle que les résultats observés (« observations ») semblaient suivre une loi normale centrée autour du modèle (« individual predictions »). En effet, sur le graphique les points semblaient se répartir de manière symétrique et aléatoire de part et d'autre de la droite d'identité. Cela a permis de confirmer la conformité du modèle structural choisi.

Figure 27 : Répartition des points représentant les données observées par rapport à la droite d'identité (prédictions individuelles = observations)



D. Ajustement du modèle statistique

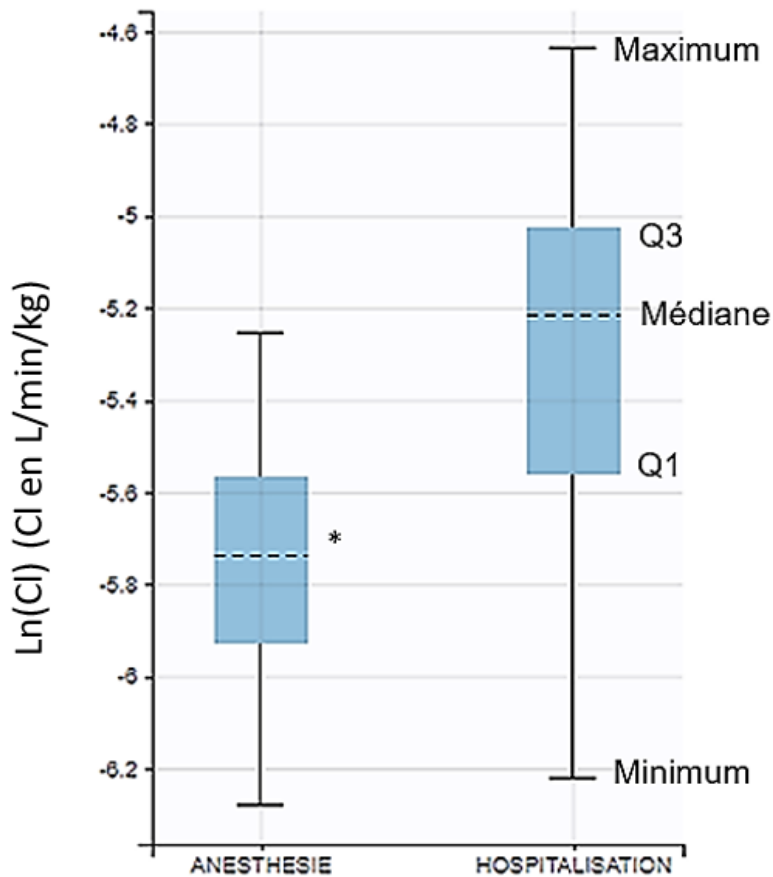
Afin d'améliorer le modèle pharmacocinétique, la contribution de chacune des covariables (poids, âge, sexe, etc.) recueillies a ensuite été évaluée par l'approche « forward / backward » dans Monolix de manière à documenter l'influence de chacune de ces covariables sur la pharmacocinétique de l'ampicilline.

La valeur du log-likelihood qui caractérise la qualité d'un modèle statistique, a été utilisée lors de l'exploitation des résultats pour comparer les différents modèles. La diminution de la valeur du log-likelihood d'un modèle à un autre était recherchée pour que le dernier modèle obtenu corresponde au modèle le plus représentatif.

Grâce aux différents graphiques diagnostiques, mettant en relation les potentielles covariables avec les différents paramètres pharmacocinétiques individuels, il était possible d'apprécier la présence éventuelle d'une corrélation significative. Le graphique représentant la clairance en fonction du service d'inclusion (anesthésie ou chenil) révélait, chez les animaux anesthésiés, une clairance

significativement plus faible que celle observée chez les animaux prélevés au sein du service des hospitalisations (Figure 28).

Figure 28 : Logarithme des clairances plasmatiques individuelles en fonction du service d'inclusion



La variabilité interindividuelle expliquée par les covariables peut être identifiée graphiquement dans un premier temps, puis confirmée à l'aide des résultats des tests statistiques réalisés par le logiciel permettant de vérifier l'existence d'une corrélation significative entre un paramètre et une covariable. Un test ANOVA (« analysis of variance ») est ainsi réalisé pour les covariables catégorielles. Ce test permet de déterminer s'il existe une différence significative entre les moyennes d'un paramètre d'intérêt pour différents groupes. Le test ANOVA réalisé pour évaluer l'effet du service (anesthésie ou hospitalisation) sur la clairance plasmatique a fourni une valeur de p-value inférieure à 0,05. La clairance était donc significativement différente entre les deux groupes de l'étude.

La prise en compte du service d'inclusion (anesthésie *versus* chenil) comme covariable a été démontrée comme pertinente et a permis d'obtenir un modèle statistique final plus performant que les précédents avec une valeur de log-likelihood plus faible que celle des modèles antérieurs.

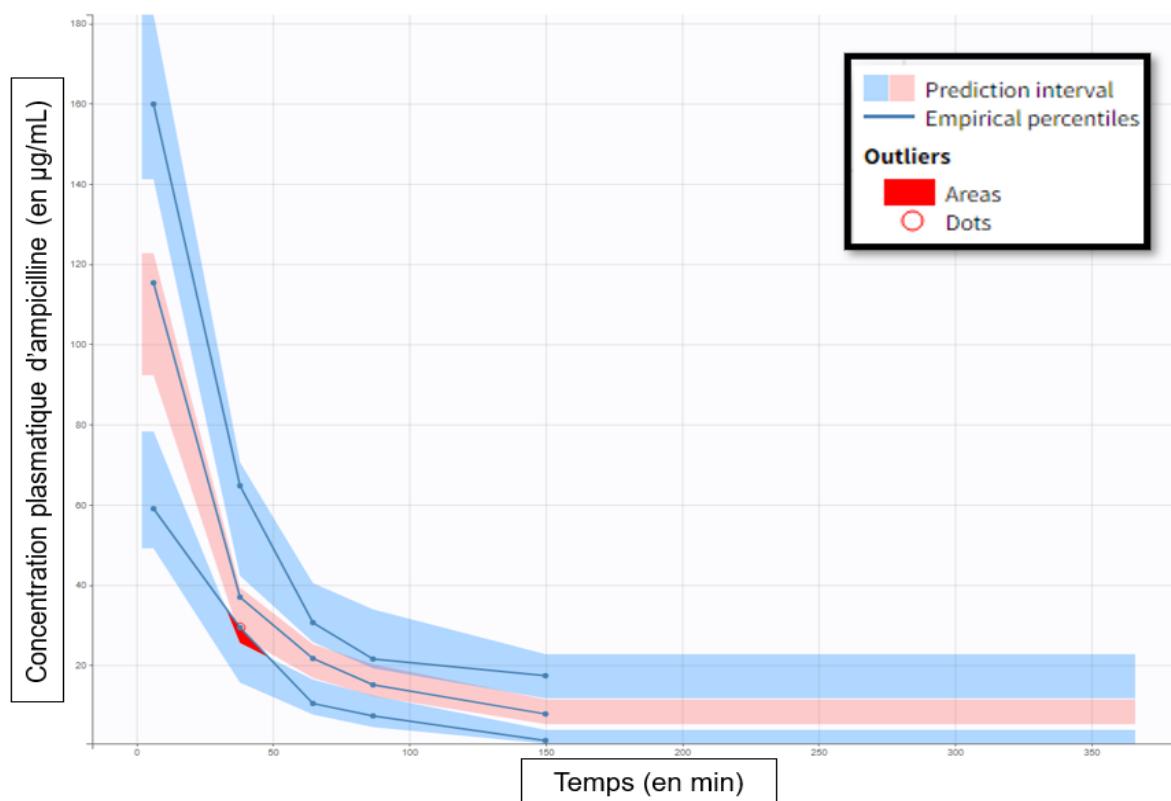
E. Validation du modèle avec la méthode de VPC

Enfin, la méthode de « Visual Predictive Check » (VPC) a été utilisée afin de vérifier la conformité du modèle établi (Figure 29).

La médiane, les 10^e et 90^e centiles des données observées sont représentés par les courbes bleues qui peuvent être comparées aux plages oranges et bleues correspondant aux intervalles de prédiction du logiciel. Les écarts anormaux sont représentés par les zones colorées en rouge.

A l'aide de ce graphique, on constate que les courbes représentant les centiles s'imbriquent conformément dans les intervalles de prédiction et que les aires d'écarts anormaux restent discrètes. Le modèle a donc pu être validé.

Figure 29 : Graphique représentant la médiane, les 10^e et 90^e centiles des données observées (courbes bleues), les intervalles de prédiction (en rose et bleu) et les écarts anormaux (en rouge)



Les données répertoriées dans le tableau 7, correspondent aux valeurs issues du modèle pharmacocinétique final et validé.

Tableau 7 : Valeurs finales des paramètres pharmacocinétiques de population du modèle associées à leur erreur standard relative (R.S.E%)

	RSE* (%)	
Fixed Effects		
Cl_{pop} (L/min/kg)	0.0036	11.4
$\beta_{Cl_SERVICE_HOSPITALISATION}$	0.22	60.5
$V1_{pop}$ (L/kg)	0.11	8.02
Q_{pop} (L/min/kg)	0.0063	21.6
$V2_{pop}$ (L/kg)	0.17	12.3
Standard Deviation of the Random Effects		
	Value	CV** (%)
ω_{Cl}	0.35	36.6
ω_{Q}	0.64	71.42
Error Model Parameters		
b	0.19	11.6

* Pourcentage d'erreur par rapport à la valeur calculée (« relative standard error »)

** Coefficient de variation

On constate une différence de clairance plasmatique significative entre les chiens du groupe « anesthésie » ($Cl_{anesthésie}$) et ceux du groupe « chenil » (Cl_{chenil}), avec une clairance diminuée de 20% chez les animaux anesthésiés :

$$Cl_{anesthésie} = Cl_{pop} = 0.0036 \text{ L/min/kg soit } 216 \text{ ml/h/kg}$$

$$Cl_{chenil} = Cl_{pop} e^{0.22} = 0.0045 \text{ L/min/kg soit } 270 \text{ ml/h/kg}$$

4. Discussion

A. Limites du modèle

Les paramètres pharmacocinétiques de population ont été obtenus à l'aide du logiciel Monolix et l'exploitation des résultats a permis de démontrer l'influence du service d'inclusion sur la clairance plasmatique. Des limites concernant les résultats obtenus doivent cependant être soulignés.

a. Dosage de l'ampicilline dans les échantillons

La concentration plasmatique totale d'ampicilline a été l'unique forme qui a pu être dosée par le laboratoire dans les échantillons.

La fraction libre de la molécule, étant la forme pharmacologiquement active et donc à l'origine des effets thérapeutiques, constituait la forme la plus appropriée à doser pour adapter les doses en conséquence. Il est cependant peu probable que le fait d'avoir dosé la forme totale et non la forme libre ait modifié considérablement les résultats et leur interprétation. En effet, l'ampicilline présente un faible taux de liaison aux protéines plasmatiques : environ 20%, contrairement aux autres pénicillines avec des taux variant de 60 à 90% (Peechakara *et al.*, 2023). La concentration plasmatique totale semblait donc tout à fait pertinente pour l'exploitation des résultats des prélèvements.

Des variations individuelles du taux de fixation de l'ampicilline aux protéines plasmatiques, dépendantes de la protéinémie notamment, peuvent être rencontrées. Un dosage de la protéinémie totale chez les animaux inclus dans l'étude aurait été pertinent, mais n'a pas été réalisé et n'a donc pas pu être pris en compte lors de l'exploitation des résultats.

De plus, la répartition des prélèvements aurait pu être perfectionnée. En effet, les prélèvements réalisés au service des hospitalisations plus de huit heures après l'administration d'ampicilline se sont avérés peu pertinents car la dose résiduelle de l'antibiotique était quasiment nulle pour ces échantillons. Ces prélèvements étaient systématiquement réalisés chez les animaux qui avaient déjà reçu de l'ampicilline au chenil afin de déterminer la quantité résiduaire avant l'inclusion dans l'étude.

b. Volume total de perfusion

L'effet éventuel de la fluidothérapie n'a pas pu être pris en compte pour l'exploitation des résultats.

Le volume total de perfusion n'a pas été mesuré précisément pour chaque individu. De plus, l'effet de la fluidothérapie dépend de l'individu et de son état

d'hydratation mais aussi du type de fluide injecté. L'effet de l'administration de fluides est ainsi complexe à déterminer et n'a pas été pris en compte pour la construction du modèle.

B. Hypothèse pour expliquer la différence de clairance plasmatique observée entre les animaux anesthésiés et hospitalisés

La construction du modèle pharmacocinétique de l'ampicilline chez le chien sur Monolix a révélé une clairance diminuée de 20% chez les animaux anesthésiés (270 ml/h/kg vs 216 ml/h/kg).

L'anesthésie a souvent pour effet une hypotension associée à des modifications des paramètres cardiovasculaires à l'origine d'une diminution du débit de filtration glomérulaire et donc de la clairance rénale. Cette baisse du débit de filtration glomérulaire induite par l'anesthésie est donc probable et pourrait expliquer les différences de clairance plasmatique observées entre les chiens du groupe « chenil » et ceux du groupe « anesthésie ». Une étude menée en 2021 s'était intéressée à la pharmacocinétique de l'ampicilline chez les chiens insuffisants rénaux et les chiens en bonne santé. Les chiens souffrant d'insuffisance rénale présentaient une clairance totale significativement inférieure à celle des chiens en bonne santé. L'insuffisance rénale constituait ainsi une source de variabilité de la pharmacocinétique de l'ampicilline (Monaghan *et al.*, 2021).

C. Perspectives

Maintenant que le modèle de pharmacocinétique de population de l'ampicilline est décrit, une simulation par la méthode Monte Carlo pourra être réalisée afin de déterminer la posologie optimale pour atteindre des concentrations plasmatiques supérieures à la concentration minimale inhibitrice (CMI) de différents pathogènes classiquement rencontrés chez le chien pendant une durée supérieure à 50% de l'intervalle d'administration, correspondant au critère d'efficacité de l'ampicilline (Kowalska-Krochmal et Dudek-Wicher, 2021). Cette simulation pourra être réalisée grâce au logiciel SimulX.

Conclusion

L'ampicilline est un antibiotique fréquemment utilisé en médecine vétérinaire. Pourtant, les données pharmacocinétiques relatives à cette molécule chez l'espèce canine sont mal connues et les doses sont souvent déterminées empiriquement.

Le but de cette étude était donc de caractériser la pharmacocinétique de l'ampicilline chez le chien de propriétaire et d'identifier les sources de variabilité en utilisant une approche de pharmacocinétique de population. La détermination plus précise du profil pharmacocinétique de cette molécule par voie intraveineuse permet, à partir des covariables explicatives mises en évidence, d'ajuster pour n'importe quel chien la dose et la fréquence d'administration afin d'optimiser les chances de réussite du traitement et de limiter les risques d'apparition de résistances.

Cette étude a été réalisée sur une année. Au bilan, 24 suivis post-injection d'ampicilline sulbactam ont été réalisés sur 20 chiens répartis entre les services d'hospitalisation et d'anesthésie de l'EnvA. Entre deux et cinq prélèvements étaient réalisés pour chaque suivis, avec un total de 84 prélèvements conservés puis dosés pour la réalisations des 24 tracés pharmacocinétiques exploités.

L'exploitation des résultats des différents prélèvements a permis de caractériser un premier modèle pharmacocinétique sur les chiens de propriétaire et de mettre en évidence l'effet de l'anesthésie comme source de réduction de 20% de la valeur de la clairance plasmatique de l'ampicilline.

L'inclusion d'autres cas, pour la réalisation d'un plus grand nombre de prélèvements, permettra de perfectionner ce modèle pharmacocinétique avec la mise en évidence éventuelle d'autres covariables à des fins d'optimisation et d'individualisation des doses à administrer à l'animal.

Liste des références bibliographiques

- ABUSHAHEEN, M.A., MUZAHEED, FATANI, A.J., *et al.* (2020) Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. *Disease-a-month: DM* vol. 66, n° 6, p. 100971. [<https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2020.100971>]
- ALEXANDER F. (1945) Penicillin - Nobel Lecture. In www.nobelprize.org. [<https://www.nobelprize.org/uploads/2018/06/fleming-lecture.pdf>] (consulté le 04/03/2023).
- ANDREWS, J.M. (2001) Determination of minimum inhibitory concentrations. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* vol. 48 Suppl 1, p. 5-16. [https://doi.org/10.1093/jac/48.suppl_1.5]
- ANMV (2012) RCP Ampicilline. In ANMV - *Résumé des caractéristiques du produit*. [<http://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=AMPINA>] (consulté le 02/05/2023).
- ANSM (2017) La consommation d'antibiotiques en France en 2016. Rapport de décembre 2017. Saint-Denis, France, ANSM. [https://sante.gouv.fr/IMG/pdf/rapport_antibio_nov2017.pdf] (consulté le 14/02/2023).
- ANTIBIOTIC RESEARCH UK (2022) Antibiotic Resistance, About Antibiotic Resistant Bacteria. In *Antibiotic Research UK*. [<https://www.antibioticresearch.org.uk/about-antibiotic-resistance/>] (consulté le 22/11/2022).
- BRITZI, M., MAZON, Y., LAVY, E., *et al.* (2014) Intravenous infusion of electrolyte solution changes pharmacokinetics of drugs: pharmacokinetics of ampicillin. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* vol. 37, n° 5, p. 445-450. [<https://doi.org/10.1111/jvp.12122>]
- CARDOT MARTIN E., DUMITRESCU O., LESPRIT P. (2019) Planet-Vie : La résistance aux antibiotiques. In *Planet-vie*. [<https://planet-vie.ens.fr/thematiques/microbiologie/bacteriologie/la-resistance-aux-antibiotiques>] (consulté le 16/04/2023).
- CAZEAU G., COLLINEAU L., HAENNI M., *et al.* (2022) Résapath : Réseau d'épidémiologie de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales. Bilan 2021. Lyon et Ploufragan-Plouzané-Niort, France, Anses-ANMV. In resapath.anses.fr. [https://resapath.anses.fr/resapath_uploadfiles/files/Documents/Rapport%20annuel/2021_Resapath_Rapport_annuel.pdf] (consulté le 20/01/2023).
- CHANG-XIAO L., JIA-RONG W., YI-LI L. (1990) Pharmacokinetics of sulbactam and ampicillin in mice and in dogs. *Acta Pharmaceutica Sinica* vol. 25, n° 6, p. 406-411.
- CLSI (2018) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28^{ème} éd. CLSI supplement M100. Wayne, PA : Clinical and Laboratory Standards Institute. In clsi.org. [https://clsi.org/media/1930/m100ed28_sample.pdf] (consulté le 12/12/2022).
- COLOMB-COTINAT M., LACOSTE J., COIGNARD B., *et al.* (2015) Morbidité et mortalité des infections à bactéries multi-résistantes aux antibiotiques en France en 2012. Étude Burden BMR, rapport - juin 2015. Saint-Maurice, Institut de veille sanitaire. In rencontresantepubliquefrance.fr. [https://www.rencontresantepubliquefrance.fr/wp-content/uploads/2017/06/COLOMB_COTINAT.pdf] (consulté le 14/12/2022).

- COMMISSION EUROPÉENNE (2022) Règlement d'exécution (UE) 2022/1255 de la commission du 19 juillet 2022 désignant des antimicrobiens ou groupes d'antimicrobiens réservés au traitement de certaines infections chez l'homme, conformément au règlement (UE) 2019/6 du Parlement européen et du Conseil. *In EUR-Lex*. [<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32022R1255>] (consulté le 20/10/2022).
- CONSEIL DE L'EUROPE (2001) Recommandation (2002/77/CE) du Conseil du 15 novembre 2001 relative à l'utilisation prudente des agents antimicrobiens en médecine humaine. *In EUR-Lex*. [<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX:32002H0077>] (consulté le 20/10/2022).
- COUR DES COMPTES (2019) La politique de prévention des infections associées aux soins. Rapport public annuel. Tome I. Paris, France, Cour des Comptes. [<https://www.ccomptes.fr/system/files/2019-02/04-politique-prevention-infections-associees-soins-Tome-1.pdf>] (consulté le 17/06/2023).
- DARPHORN, T.S., BEL, K., KOENDERS-VAN SINT ANNELAND, B.B., *et al.* (2021) Antibiotic resistance plasmid composition and architecture in *Escherichia coli* isolates from meat. *Scientific Reports* vol. 11, n° 1, p. 2136. [<https://doi.org/10.1038/s41598-021-81683-w>]
- EMA (2019) Categorisation of antibiotics in the European Union. *In European Medicines Agency*. [<https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/categorisation-antibiotics-european-union-answer-request-european-commission-updating-scientificen.pdf>] (consulté le 04/07/2023).
- EMA (2018) European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption (ESVAC). *In European Medicines Agency*. [<https://www.ema.europa.eu/en/veterinary-regulatory/overview/antimicrobial-resistance/european-surveillance-veterinary-antimicrobial-consumption-esvac>] (consulté le 04/07/2023).
- ESVAC (2017) Sales of veterinary antimicrobial agents in 30 European countries in 2015. *In European Medicines Agency*. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/seventh-esvac-report-sales-veterinary-antimicrobial-agents-30-european-countries-2015_en.pdf] (consulté le 01/06/2023).
- EUCAST (2020) The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing: Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters (version 10.0). *In European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*. [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_10.0_Breakpoint_Tables.pdf] (consulté le 10/06/2023).
- EYLER, R.F., SHVETS, K. (2019) Clinical Pharmacology of Antibiotics. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* vol. 14, n° 7, p. 1080-1090. [<https://doi.org/10.2215/CJN.08140718>]
- FRIEDEN T. (2013) Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. United-States, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). [<https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>] (consulté le 13/05/2023).
- GUARDABASSI, L., APLEY, M., OLSEN, J.E., *et al.* (2018) Optimization of Antimicrobial Treatment to Minimize Resistance Selection. *Microbiology Spectrum* vol. 6, n° 3. [<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0018-2017>]
- HAOUICHAT H., GUENARD L., BOURGEOIS S., *et al.* (2002) Les tests cutanés dans l'exploration de l'allergie à la pénicilline. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, vol. 42, p. 779-792. [[https://doi.org/10.1016/S0335-7457\(02\)00222-8](https://doi.org/10.1016/S0335-7457(02)00222-8)]

- HECKER, M.T., ARON, D.C., PATEL, N.P., *et al.* (2003) Unnecessary use of antimicrobials in hospitalized patients: current patterns of misuse with an emphasis on the antianaerobic spectrum of activity. *Archives of Internal Medicine* vol. 163, n° 8, p. 972-978. [<https://doi.org/10.1001/archinte.163.8.972>]
- HOOPER, D.C. (2000) New uses for new and old quinolones and the challenge of resistance. *Clinical Infectious Diseases* vol. 30, n° 2, p. 243-254. [<https://doi.org/10.1086/313677>]
- HUTCHINGS, M.I., TRUMAN, A.W., WILKINSON, B. (2019) Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology, Antimicrobials* vol. 51, p. 72-80. [<https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008>]
- INRA (2018) Réduire l'usage des antibiotiques en élevage. In *INRAE*. [<https://www6.inrae.fr/santinnov/Page-d-accueil/Actualites/DOSSIER-Reduire-l-usage-des-antibiotiques-en-elevage>] (consulté le 16/04/2023).
- KAPOOR, G., SAIGAL, S., ELONGAVAN, A. (2017) Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of Anaesthesiology, Clinical Pharmacology* vol. 33, n° 3, p. 300-305. [https://doi.org/10.4103/joacp.JOACP_349_15]
- KITSOS, E. (2020) Perspectives d'optimisation pharmacodynamique des antibiotiques en soins intensifs : étude rétrospective chez les carnivores domestiques entre 2016 et 2019 à l'EnvA. Thèse de Médecine vétérinaire. École Nationale Vétérinaire d'Alfort.
- KOHLHAUER M. (2018) Manuel d'auto-apprentissage pharmacocinétique. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité pédagogique de Pharmacie, Pharmacologie et Toxicologie du médicament vétérinaire.
- KOWALSKA-KROCHMAL, B., DUDEK-WICHER, R. (2021) The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. *Pathogens* vol. 10, n° 2, p. 165. [<https://doi.org/10.3390/pathogens10020165>]
- KÜNG, K., HAUSER, B.R., WANNER, M. (1995) Effect of the interval between feeding and drug administration on oral ampicillin absorption in dogs. *The Journal of Small Animal Practice* vol. 36, n° 2, p. 65-68. [<https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1995.tb02824.x>]
- LOBET S. (2019) La Modélisation Pharmacocinétique basée sur la physiologie dans la prédiction d'interaction médicamenteuse. Thèse de médecine en pharmacie, Université de Rennes 1. [<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02893526/document>]
- MARCEL, J.P. (2005) L'antibiogramme et son impact médical. *Antibiotiques* vol. 7, n° 1, p. 53-58. [[https://doi.org/10.1016/S1294-5501\(05\)80166-9](https://doi.org/10.1016/S1294-5501(05)80166-9)]
- MCEWEN, S.A., COLLIGNON, P.J. (2018) Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. *Microbiology Spectrum* vol. 6, n° 2. [<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017>]
- MCKELLAR, Q.A., SANCHEZ BRUNI, S.F., JONES, D.G. (2004) Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of antimicrobial drugs used in veterinary medicine. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* vol. 27, n° 6, p. 503-514. [<https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2004.00603.x>]
- MÉNARD S., ROESCH L. (2018) Quels instruments économiques pour lutter contre la résistance aux antibiotiques. *Trésor-Eco* n° 215. Paris, Direction générale du Trésor. [<https://www.tresor.economie.gouv.fr/Articles/a9782706-87a4-4cdc-9a4c-86a72736315d/files/525144cc-24fb-4c93-aa5b-c67aefd3b40a>] (consulté le 02/02/2023).

- MONAGHAN, K.N., LABATO, M.A., PAPICH, M.G. (2021) Ampicillin pharmacokinetics in azotemic and healthy dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* vol. 35, n° 2, p. 987-992. [https://doi.org/10.1111/jvim.16026]
- MONOLIX (2018) Case study: Remifentanil pharmacokinetics. *In monolix.lixoft.com*. [https://monolix.lixoft.com/case-studies/remifentanil-case-study/] (consulté le 23/05/2023).
- O'NEILL J. (2016) Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations. Review on Antimicrobial Resistance. London, UK, Wellcome Trust and HM Government. [https://apo.org.au/sites/default/files/resource-files/2016-05/apo-nid63983.pdf] (consulté le 07/04/2023).
- ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ (2020) Programmes pour le bon usage des antimicrobiens dans les établissements de santé dans les pays à revenu intermédiaire, tranche inférieure. Une boîte à outils pratique de l'OMS. Genève, OMS. [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332624/9789240003071-fre.pdf?sequence=1&isAllowed=y] (consulté le 07/04/2023).
- PASTOR M. (2013) Modélisation pharmacocinétique/pharmacodynamique par une approche de population de l'effet du G-CSF chez des patients traités avec du carboplatine. Thèse de doctorat (Pathologie, Toxicologie, Génétique et Nutrition), Institut National Polytechnique de Toulouse.
- PEECHAKARA, B.V., BASIT, H., GUPTA, M. (2022) Ampicillin. *In StatPearls*. [https://www.statpearls.com/point-of-care/17481] (consulté le 13/01/2023).
- ROCHEGÜE, T., HAENNI, M., MONDOT, S., *et al.* (2021) Impact of Antibiotic Therapies on Resistance Genes Dynamic and Composition of the Animal Gut Microbiota. *Animals* vol. 11, n° 11, p. 3280. [https://doi.org/10.3390/ani11113280]
- SANTÉ PUBLIQUE FRANCE ET PARTENAIRES (2018) Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France : une infection évitée, c'est un antibiotique préservé. Saint-Maurice, Santé publique France, Direction de la communication, Unité de valorisation scientifique. *In santepubliquefrance.fr*. [https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/infections-associees-aux-soins-et-resistance-aux-antibiotiques/resistance-aux-antibiotiques] (consulté le 20/01/2023).
- SHEINER, L.B., BEAL, S.L. (1983) Evaluation of methods for estimating population pharmacokinetic parameters. III. Monoexponential model: routine clinical pharmacokinetic data. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* vol. 11, n° 3, p. 303-319. [https://doi.org/10.1007/BF01061870]
- SIMON N., LE GUELLEC C., LAPORTE S. (2005) Analyse pharmacocinétique de population. *Médecine thérapeutique* vol. 11, n°3, p. 212-218.
- TAM, V.H., LOUIE, A., DEZIEL, M.R., *et al.* (2007) The relationship between quinolone exposures and resistance amplification is characterized by an inverted U: a new paradigm for optimizing pharmacodynamics to counterselect resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* vol. 51, n° 2, p. 744-747. [https://doi.org/10.1128/AAC.00334-06]
- TEN VOORDE, G., BROEZE, J., HARTMAN, E.G., *et al.* (1990) The influence of the injection site on the bioavailability of ampicillin and amoxicillin in beagles. *The Veterinary Quarterly* vol. 12, n° 2, p. 73-79. [https://doi.org/10.1080/01652176.1990.9694248]

- TREPANIER L. (2013) Rational Use of Presurgical Antibiotics - World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings, University of Wisconsin-Madison, Madison, WI, USA. *In VIN.com*. [<https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pld=11372&meta=generic&catId=35316&id=5709855&ind=260&objTypeID=17>] (consulté le 24/11/2022).
- URBAN D., CHEVANCE A., MOULIN G. (2022) Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2021. Rapport annuel. Maisons-Alfort, France, Anses-ANMV. *In anses.hal.science*. [https://anses.hal.science/anses-03951735v1/file/ANMV_Ra_Antibiotiques2021.pdf] (consulté le 14/02/2023).
- WANG, C.-H., HSIEH, Y.-H., POWERS, Z.M., *et al.* (2020) Defeating Antibiotic-Resistant Bacteria: Exploring Alternative Therapies for a Post-Antibiotic Era. *International Journal of Molecular Sciences* vol. 21, n° 3, p. 1061. [<https://doi.org/10.3390/ijms21031061>]
-

Annexe 1 : Modèle de feuille de suivi des prélèvements de sang

Etiquette

Date de naissance : .../.../...
 Poids : ... kg
 Race :
 Sexe : M F Stérilisé

Date des prélèvements : .../.../...
 Pathologie :
 Débit de perfusion : ... ml/kg

Rang d'administration :
 Identification d'étude :



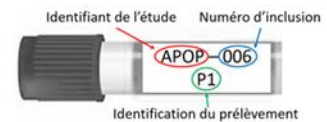
Injection d'ampicilline :
 Heure :h.....min
 Dose : ... mg/kg
 Voie :

Centrifuger le tube,
 récupérer le plasma,
 identifier et stocker à -80°C



Prélèvements (plasma) :
 Heure P1 :h.....min
 Heure P2 :h.....min
 Heure P3 :h.....min
 Heure P4 :h.....min

Remarques :



Annexe 2 : Fiche d'information pour les propriétaires

NOTE D'INFORMATION POUR LE FORMULAIRE DE CONSENTEMENT ANTIBIOPOP

Pour l'utilisation d'animaux de propriétaires en Recherche Clinique vétérinaire

Individualisation et optimisation du traitement parentéral à l'ampicilline chez le chien par approche de pharmacocinétique de populations.

Madame, Monsieur,

Nous vous proposons de faire participer votre animal à l'essai clinique ANTIBIOPOP.

Avant que vous ne décidiez de participer à cette étude, il est important que vous lisiez attentivement cette notice d'information. N'hésitez pas à poser toutes les questions que vous souhaitez au vétérinaire qui vous a remis ce document.

Pourquoi cette étude ?

Les traitements pharmacologiques des infections bactériennes nécessitent l'utilisation de molécules antibiotiques dont l'un des plus utilisés à l'EnvA est l'ampicilline, en association avec le sulbactam.

Cette molécule n'est cependant pas disponible en médecine vétérinaire mais n'existe que sous la forme d'un médicament autorisé chez l'humain. Même si l'ampicilline est bien connue chez le chien, il est probable que différents facteurs (par exemple, la maladie dont souffre votre animal, le fait de recevoir une perfusion intraveineuse, *etc.*) puissent influencer la concentration de cette molécule dans le sang.

L'objectif du présent projet est donc de décrire **l'influence de ces différents paramètres sur l'efficacité du traitement** grâce à une mesure de la concentration en d'ampicilline dans le sang de votre animal après l'administration.

Cette étude permettra, à terme, de **modéliser et prendre en compte les caractéristiques individuelles** afin de personnaliser la dose administrée à chaque animal.

Grâce à une méthode statistique innovante, cela permettra d'établir de nouvelles recommandations afin d'augmenter le **taux de guérison** et de **diminuer le risque d'effets secondaires** lors de l'utilisation d'ampicilline en médecine vétérinaire.

Déroulement de l'étude :

Si vous acceptez que votre animal participe à cette étude, 4 prises de sang seront réalisées après chaque administration d'ampicilline. Chaque prise de sang sera limitée à un volume individuel de 2 ml par prélèvement réalisé à la veine jugulaire.

Ces prélèvements sont sans danger pour votre animal mais permettront de recueillir le sang nécessaire au dosage de la molécule dans le sang.

Au cours du déroulement de l'étude, l'un des vétérinaires impliqués dans le présent projet pourra vous contacter par téléphone ou par courriel afin d'obtenir d'éventuelles informations complémentaires sur la réponse au traitement.

Quels sont vos droits ?

Vous avez le droit d'avoir communication au cours ou à l'issue de l'étude des informations concernant la santé de votre animal.

Après anonymisation, les investigateurs de l'étude se réservent le droit d'utiliser les données recueillies sur votre animal à des fins de communication de résultats scientifiques.

Vous avez le droit de retirer votre animal de l'étude pour quelque raison que ce soit, à n'importe quel moment.

INDIVIDUALISATION ET OPTIMISATION DU TRAITEMENT PARENTÉRAL À L'AMPICILLINE CHEZ LE CHIEN PAR APPROCHE DE PHARMACOCINÉTIQUE DE POPULATIONS

AUTEUR : Claire AUDRAC

RÉSUMÉ :

L'ampicilline associée au sulbactam est un antibiotique couramment utilisé en médecine vétérinaire chez les chiens. Pourtant, les données pharmacocinétiques relatives à cette molécule dans l'espèce canine sont peu connues et les posologies sont souvent déterminées empiriquement.

Les études pharmacocinétiques reposent pour l'instant sur des chiens de laboratoire et ne permettent pas de rendre compte de la variabilité pharmacocinétique pouvant être rencontrée chez les animaux de propriétaires. L'optimisation des doses à administrer, afin d'augmenter les chances de réussite du traitement et de limiter les risques d'apparition de résistances bactériennes, nécessite une meilleure caractérisation de la pharmacocinétique de cette molécule.

L'objectif de cette étude était donc de caractériser la pharmacocinétique de l'ampicilline chez les chiens de propriétaire et d'identifier les sources de variabilité en utilisant la méthode de pharmacocinétique de population, afin de déterminer, pour un individu donné, la dose et la fréquence d'administration les mieux adaptés.

L'exploitation des résultats des différents prélèvements réalisés a permis de caractériser un premier modèle pharmacocinétique de l'ampicilline à partir de chiens de propriétaire et de mettre en évidence l'anesthésie comme covariable explicative de la variabilité de la clairance plasmatique et donc du modèle.

MOTS CLÉS :

AMPICILLINE, PHARMACOCINÉTIQUE, PHARMACOCINÉTIQUE DE POPULATIONS, CHIEN

JURY :

Président : Pr Renaud TISSIER

Directeur de thèse : Pr Matthias KOHLHAUER

Examinatrice : Pr Christelle MAUREY-GUENEC

INDIVIDUALIZATION AND OPTIMIZATION OF AMPICILLIN PARENTERAL TREATMENT IN DOGS USING POPULATION PHARMACOKINETICS METHOD

AUTHOR: Claire AUDRAC

SUMMARY:

Ampicillin and sulbactam combination is an antibiotic commonly used in veterinary medicine in dogs. However, the pharmacokinetic data relating to this molecule in the canine species are not very well-known and the dosages are often determined empirically.

Pharmacokinetic studies are currently based on laboratory dogs and do not reflect the pharmacokinetic variability that may be encountered in owned animals. The optimization of the doses for patient administration, in order to increase the treatment success and to limit the risks of occurrence of antimicrobial resistance, requires a better characterization of the pharmacokinetics of this drug.

Therefore, the purpose of this study was to describe the pharmacokinetics of ampicillin in owned dogs and to identify the sources of variability using the population pharmacokinetics method, in order to determine, for one individual, the most suitable dose and frequency of administration.

The exploitation of the results of the various samples taken, allowed us to build a pharmacokinetic model for ampicillin in owned dogs and to identify anaesthesia as an explicative covariate of the plasma clearance and pharmacokinetic variability.

KEYWORDS:

AMPICILLIN, PHARMACOKINETICS, POPULATION PHARMACOKINETICS, DOG

JURY:

Chairperson: Pr Renaud TISSIER

Thesis Director: Pr Matthias KOHLHAUER

Reviewer: Pr Christelle MAUREY-GUENEC