



HAL
open science

Détermination des paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de trois formulations commerciales de pénicilline G afin d'optimiser le traitement antibiotique de première intention chez le cheval

Laura Chapuis

► **To cite this version:**

Laura Chapuis. Détermination des paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de trois formulations commerciales de pénicilline G afin d'optimiser le traitement antibiotique de première intention chez le cheval. Médecine vétérinaire et santé animale. 2021. dumas-04479588

HAL Id: dumas-04479588

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04479588v1>

Submitted on 27 Feb 2024

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.

DETERMINATION DES PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES ET PHARMACODYNAMIQUES DE TROIS FORMULATIONS COMMERCIALES DE PENICILLINE G AFIN D'OPTIMISER LE TRAITEMENT ANTIBIOTIQUE DE PREMIERE INTENTION CHEZ LE CHEVAL

THESE
pour obtenir le titre de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

CHAPUIS Laura

Directrice de thèse : Mme Elodie LALLEMAND

JURY

PRESIDENTE :
Mme Bettina COUDERC

Professeure à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURES :
Mme Elodie LALLEMAND
Mme Aude FERRAN

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRES INVITES :
Mme Béatrice ROQUES
Mme LOURENCO Sandra

Ingénieure de Recherche à l'Ecole Vétérinaire de TOULOUSE
Elève en 5^{ème} année à l'Ecole Vétérinaire de TOULOUSE

DETERMINATION DES PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES ET PHARMACODYNAMIQUES DE TROIS FORMULATIONS COMMERCIALES DE PENICILLINE G AFIN D'OPTIMISER LE TRAITEMENT ANTIBIOTIQUE DE PREMIERE INTENTION CHEZ LE CHEVAL

THESE
pour obtenir le titre de DOCTEUR
VETERINAIRE
DIPLOME D'ETAT

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

par

CHAPUIS Laura

Née le 14/05/1995 à BEAUNE (21)

Directrice de thèse :
Mme Elodie LALLEMAND

JURY

PRESIDENTE :

Mme Bettina COUDERC

Professeure à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURES :

Mme Elodie LALLEMAND

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Mme Aude FERRAN

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Directeur : Professeur Pierre SANS

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie – Thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD, Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **PETIT Claude**, (Emérite) - *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie Vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootechne*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
- M. **RABOISSON Didier**, *Médecine de population et Économie de la santé animale*

PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAÎTRES DE CONFÉRENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*

- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Immunologie- Bactériologie-Pathologie infectieuse*
- Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
- M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*
- Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie - Analgésie*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
- Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
- Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire – Maladies animales règlementées*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

CHARGES D'ENSEIGNEMENT CONTRACTUELS

- M. **FERCHIOU Ahmed**, *Economie, production animale,*
- M. **LEYNAUD Vincent**, *Médecine interne*
- Mme **ROBIN Marie-Claire**, *Ophthalmologie*
- Mme **SOUVESTRE Marie**, *Production et pathologie aviaire*
- Mme **TOUSSAIN Marion**, *Pathologie des équidés*

ENSEIGNANT DE PREMIERE ANNEE COMMUNE AUX ETUDES VETERINAIRE

- Mme **GAUCHARD Cécile**, *Biologie-écologie-santé*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- M **BESSIERE Pierre**, *Microbiologie infectiologie*
- Mme **BLONDEL Margaux**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie-Imagerie médicale*
- M. **COMBARROS-GARCIA Daniel**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **GAIDE Nicolas**, *Histologie, Anatomie Pathologique*
- M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- M. **LESUEUR Jérémy**, *Gestion de la santé des ruminants – Médecine collective de précision*
- M. **TOUITOU Florian**, *Alimentation animale*

Remerciements :

**A mon Président du jury de thèse,
Madame la Professeure Bettina COUDERC**

Professeure à l'Université Paul Sabatier de Toulouse – Biologie moléculaire et
Biotechnologies, équipe Bioethics UMR 1027

Qui me fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse.

**A ma directrice de thèse,
Madame le Docteur Elodie LALLEMAND**

Maître de conférences à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse – Chirurgie des équidés
*Qui m'a proposé ce sujet passionnant. Qui a apporté de la bonne humeur tout au long des
phases expérimentales et nous a accompagné pendant toute la durée de ce projet.*

Merci pour cette aventure !

Madame le docteur Aude FERRAN

Maître de conférences à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse – Physiologie
*Qui a accepté de prendre part à ce jury de thèse et qui nous a largement accompagné pendant
les phases expérimentales et lors de l'interprétation des résultats.*

Merci pour cette aide précieuse !

Madame Béatrice ROQUES

Ingénieur de recherche, Responsable animalerie – UMR1436 INRA/ENVIT INTHERE
*Qui a été présente lors de chaque phase expérimentale, des étapes de traitements de données
et d'analyse des résultats.*

Merci pour cette aide indispensable !

A Sandra Lourenço

*Qui rédige la partie microbiologie de cette étude. Pour les moments passés ensemble pendant
cette thèse et ailleurs. À cette prochaine année d'internat ensemble.*

Merci !

Remerciements :

À mes parents, Sabine et Denis,

Pour votre soutien sans faille pendant toutes ces années, pour avoir toujours cru en moi. Il faut bien plus qu'une page, au moins une vie pour vous remercier. Je vous aime.

À mes parents bis, Béatrice et Jérôme,

Pour avoir été là en renfort, 4 ce n'est pas de trop pour supporter Laulau dans ses grands moments.

À mes grands-parents maternels,

Jeannine et Serge

et

À mes grands-parents paternels,

Monique et Jean

Merci pour votre soutien depuis toutes ces années et votre contribution à mon entrée en école vétérinaire. Je ne vous remercierai jamais assez.

À ma sœur, Mélanie,

A nos différences nombreuses et à ce contraste que nous faisons toutes les deux.

Merci pour ton soutien, reste la personne que tu es.

A ton couple avec Jb, vous me faites rêver.

À ma tante Valérie, mon oncle Jérôme et mes cousins

Merci pour votre bienveillance et votre présence tout au long de ce parcours !

À Rachel et tous mes oncles et tantes

Merci !

À Cassandra,

La meilleure amie que l'on puisse avoir. Merci pour ton soutien sans failles depuis toujours. Pour tous les bons moments passés ensemble et tous les souvenirs qui restent de nos années lycée. À tous nos projets communs...

À Laurine et Manon,

A cette amitié qui dure et qui j'espère durera encore longtemps. À tous les moments partagés ensemble.

À Aldo,

Sans toi je n'en serais sûrement pas là aujourd'hui !

À mes rencontres lyonnaises

et tout particulièrement à Raphaëlle et Julien.

Merci pour cette super année avec vous ! À ce beau trio prometteur !

À mes amis toulousains

et particulièrement Amélie, Rémi, Thibault, Charline, Camille et Louise

À Paul,

Tu es la meilleure chose qui me soit arrivée pendant ces quatre dernières années. Merci pour ton soutien, ta présence, ton aide au quotidien et toutes nos aventures passées et à venir.

Je t'aime.

Merci !

Table des matières

INTRODUCTION	21
PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	23
I) Notions de pharmacocinétique et pharmacodynamie.....	23
A) Pharmacocinétique (PK).....	23
1) Biodisponibilité et liaison aux protéines plasmatiques.....	23
2) Clairance plasmatique	25
3) Volume de distribution	26
4) Temps de demi-vie	30
B) Pharmacodynamie (PD).....	30
1) Les indices PK/PD.....	31
2) Effets post-antibiotiques.....	34
3) Détermination des schémas posologiques	34
II) Caractéristiques des antibiotiques de la famille des B-lactamines	36
A) Généralités sur les pénicillines	37
1) Propriétés pharmacocinétiques.....	37
2) Interactions avec les autres médicaments	37
B) La pénicilline G	38
1) Propriétés chimiques	38
2) Formes galéniques	38
3) Absorption	39
4) Distribution.....	39
5) Elimination	40
6) Stabilité.....	40
7) Résistance	40
8) Effets indésirables	40
C) Autres formes de pénicilline.....	41
D) Utilisations usuelles de la pénicilline G	42
E) Etat actuel des connaissances/ études sur la pénicilline G chez les équidés	42
1) Généralités.....	42
2) Propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques des différentes pénicillines	43
3) Effet du site d'injection sur la biodisponibilité et les concentrations plasmatiques	47
4) Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) des principaux pathogènes sensibles à la pénicilline G	48
5) Liaison aux protéines plasmatiques.....	49
III) Etude des principales bactéries pathogènes du cheval	49

PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE.....	57
I) Matériel et méthode.....	57
A) Matériel	57
1) Médicaments utilisés	57
a) Dépocilline®	57
i) Généralités.....	57
ii) Description du produit.....	58
b) Duplocilline	58
i) Généralités.....	58
ii) Description du produit.....	59
c) Penetavet	59
i) Généralités.....	59
ii) Description du produit.....	59
2) Préparation du matériel test	60
3) Chevaux inclus dans l'étude.....	61
a) Condition de vie et d'utilisation des animaux durant l'étude	61
b) Antécédents de traitements/ expérimentation.....	61
B) Plan expérimental	62
1) Détails des phases.....	62
2) Modalités d'administration.....	63
3) Collecte des échantillons	63
a) Prélèvement sanguin.....	63
b) Prélèvements d'urines	64
4) Recueil des informations durant les phases d'expérimentation.....	65
C) Analyse des échantillons	66
1) Dosage de la pénicilline G dans le plasma	66
a) Réalisation des solutions filles de pénicilline G.....	66
b) Réalisation de la gamme étalon et des points de contrôle de qualité.....	66
c) Préparation du standard interne	66
d) Extraction des échantillons.....	67
e) Critères d'acceptabilité des résultats ou de conformité	67
2) Analyse non compartimentale	68
3) Dosage des CK dans le plasma.....	68
II) Résultats de l'étude expérimentale.....	70
A) Analyse non compartimentale des données.....	70
1) Injection intraveineuse de Pénicilline G sodique	70

a) Données brutes	70
b) Analyse non compartimentale	70
2) Injection intramusculaire de Dépocilline ®.....	72
a) Données Brutes.....	72
b) Analyse non compartimentale	73
3) Injection intramusculaire de Duplocilline ®	75
a) Données brutes	75
b) Analyse non compartimentale	75
4) Injection intramusculaire de Pénétafet®.....	78
a) Données brutes	78
b) Analyse non compartimentale	78
5) Interprétation de la clairance apparente et du volume de distribution.....	80
6) Calculs des biodisponibilités	81
B) Analyse PKPD des courbes de concentrations plasmatiques en pénicilline G en fonction de CMI90 provenant de la littérature.....	81
1) Dépocilline®	82
2) Duplocilline ®	84
3) Pénétafet ®	86
C) Etude de la tolérance	88
1) Etude des CK plasmatiques	88
a) Concentrations plasmatiques en CK.....	88
b) Evaluation des dommages musculaires	91
2) Gonflement et induration au site d'injection	92
DISCUSSION	96
CONCLUSION	99
BIBLIOGRAPHIE.....	101
ANNEXES.....	106
Annexe 1 : Grille d'évaluation de la douleur	106
Annexe 2 : Planning détaillé phase I	108
Annexe 3 : Détail des administrations pour la phase 1.....	110
Annexe 4 : Planning détaillé phase 2	111
Annexe 5 : Détail administrations phase II	112
Annexe 6 : Planning détaillé phase III	113
Annexe 7 : Détail administration phase III.....	115
Annexe 8 : Plan des boxs et du local d'expérimentation.....	116

Table des tableaux

Tableau 1: Paramètres pharmacocinétiques de la benzylpénicilline plasmatique après une injection intramusculaire de Mamysin®. Tableau extrait de l'étude (Hattum, Friton 2003)	45
Tableau 2: Tableau récapitulatif des données pharmacocinétiques de certaines formes de pénicilline G.	46
Tableau 3: Tableau récapitulatif de certains paramètres pharmacocinétiques après injection de pénicilline procaïne G à la dose de 20 000 UI/kg selon le site d'injection. Source : Firth et al 1986....	48
Tableau 4: Tableau de synthèse regroupant différentes CMI de pathogènes fréquents chez les chevaux.....	49
Tableau 5: Etude de la sensibilité de diverses espèces/genres bactériens à la pénicilline.....	52
Tableau 6: Etude de la sensibilité de diverses espèces/genres bactériens au ceftiofur	52
Tableau 7: Résumé des pathogènes courants du cheval et de leurs sensibilités à la pénicilline G et aux céphalosporines	53
Tableau 8: CMI seuils avec la méthode des disques de bactéries d'intérêt provenant du CLSI 2018 pour les équidés. Le signe / signifie que les données correspondantes sont indisponibles.....	55
Tableau 9: Tableau récapitulatif des chevaux utilisés pour l'étude	61
Tableau 10: Tableau récapitulatif des doses administrées en mg/kg et converties en UI/kg et de la voie d'administration	63
Tableau 11: Principaux paramètres PK de la pénicilline G sodique déterminés par analyse non-compartimentale	71
Tableau 12: Tableau de synthèse des moyennes des principaux paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de la pénicilline G sodique	71
Tableau 13: Cmax et Tmax obtenus chez les 6 chevaux avec la Dépocilline® après la première administration	73
Tableau 14: Principaux paramètres PK de la Dépocilline® déterminés par analyse non-compartimentale	73
Tableau 15: Valeurs moyennes des paramètres pharmacocinétiques de la Dépocilline® pour les 6 chevaux de l'étude.	74
Tableau 16: Analyse Cmax et Tmax Duplocilline® après la première administration soit dans l'intervalle 0-48h.	75
Tableau 17: Principaux paramètres PK de la Duplocilline® déterminés par analyse non-compartimentale	76
Tableau 18: Valeurs moyennes des paramètres pharmacocinétiques de la Duplocilline® pour les 6 chevaux de l'étude.	76
Tableau 19: Analyse Cmax et Tmax Pénétavet pendant l'intervalle T0h- T24h.....	78
Tableau 20 : Principaux paramètres PK du Pénétavet® déterminés par analyse non-compartimentale	79
Tableau 21: Valeurs moyennes des paramètres pharmacocinétiques du Pénétavet® pour les 6 chevaux de l'étude	79
Tableau 22: Biodisponibilités par cheval et par molécule.....	81
Tableau 23: Etude du ratio T>CMI selon différentes CMI de la littérature pour la Dépocilline®	83
Tableau 24: Etude du ratio T>CMI pendant l'intervalle 0-72h pour la Dépocilline®	83
Tableau 25: Etude du ratio T>CMI selon différentes CMI de la littérature pour la Duplocilline®. Le T24 correspond au T>CMI en considérant un intervalle d'administration de 24h.	84
Tableau 26: Etude du ratio T>CMI pour l'intervalle 0-72h pour la Duplocilline®	85
Tableau 27: Etude du ratio T>CMI selon différentes CMI de la littérature pour le Pénétavet®.	86
Tableau 28: Etude du ratio T>CMI pour les intervalles 24-48h et 0-72h pour le Pénétavet®	87

Tableau 29: Tableau récapitulatif des paramètres des CK plasmatiques après administration de différentes préparations commerciales de pénicilline.....	91
Tableau 30: Tableau récapitulatif des valeurs utilisées pour le calcul de Q_r (UI/kg)	91
Tableau 31: Valeur du coefficient a en fonction du site d'injection. Toutain et al 1995	91
Tableau 32: Evaluation de la destruction musculaire (mg/kg) par cheval et par molécule.....	92

Table des figures

Figure 1: Représentation graphique de la différence entre le volume du compartiment central et le volume de distribution Vd_{area} . Source : (Reed et al. 2018).....	27
Figure 2: Représentation graphique du volume de distribution quand les concentrations plasmatiques sont mesurées à l'état d'équilibre. Source: (Reed et al. 2018)	28
Figure 3: Volume de distribution de certains médicaments utilisés couramment chez le cheval. Source : (Reed et al., 2018)	29
Figure 4: Indices PK/PD et relations entre paramètres. L Chapuis.....	32
Figure 5: Pour les antibiotiques concentration-dépendants, le quotient inhibiteur et l'aire sous la courbe sont les facteurs déterminants l'efficacité clinique. Source : Internal Equine Medicine 4th Edition	32
Figure 6: Pour les antibiotiques temps dépendant, le temps durant lequel la concentration est supérieur à la CMI du pathogène détermine l'efficacité clinique. Source : Internal Equine Medicine 4th Edition	33
Figure 7 : Exemples d'antibiotiques et des paramètres PK/PD qui déterminent leur efficacité.. Inspiré de Craig et al 1998.....	33
Figure 8: Molécule de Benzylpénicilline	38
Figure 9: Concentration plasmatique et dans le lait de benzylpénicilline après administration intramusculaire de Mamysin®. Graphique extrait de l'étude (Hattum, Friton 2003).....	45
Figure 10: Procaine pénicilline	57
Figure 11: A gauche : molécule de benzylpénicilline ; à droite : benzathine	58
Figure 12: Molécule de pénéthamate	59
Figure 13: Sites d'injection en intramusculaire utilisés couramment chez le cheval. En gras et souligné, la masse musculaire glutéale qui est le site d'administration choisis dans notre étude.....	60
Figure 14: Photographie réalisée lors de la troisième phase expérimentale en janvier 2020. Les chevaux 1 à 6 sont respectivement dans les boxs de gauche à droite dans cet ordre. Source : Laura Chapuis	61
Figure 15: Frise chronologique des phases expérimentales. Les couleurs correspondent aux groupes de chevaux qui ont reçu le traitement dans une phase donnée. Cheval 1 et cheval 2 ; cheval 3 et cheval 4 ; cheval 5 et cheval 6	62
Figure 16: Grille utilisée pour déterminer un score de gonflement au site d'injection.....	65
Figure 17: Grille utilisée pour déterminer un score d'induration au site d'injection.....	65
Figure 18: Concentration plasmatique de pénicilline G en fonction du temps après une administration de pénicilline G sodique à 22 000UI/kg par voie intraveineuse. Les numéros correspondent aux chevaux de l'étude.	70
Figure 19: Concentration plasmatique en pénicilline G en fonction du temps après administration répétée de Dépocilline® à 10mg/kg q24h pendant 3 jours.....	72
Figure 20: Concentrations plasmatiques en pénicilline G en fonction du temps après 2 administrations de Duplocilline® à la dose de 12.4mg/kg q 48h. Les numéros correspondent aux identifiants des chevaux de l'étude.....	75
Figure 21: Concentration en pénicilline G plasmatique en fonction du temps pour les 6 chevaux après administration de Pénétavet à une première dose de 7.72g par cheval puis à 3.86g pour les deux injections suivantes à 24 heures d'intervalle.	78
Figure 22: Représentation graphique de la concentration en pénicilline G ($\mu\text{g}/\text{kg}$) en fonction du temps. Les moments d'injection sont représentés par des lignes verticales noires.....	82
Figure 23: Représentation graphique de la concentration en pénicilline G ($\mu\text{g}/\text{kg}$) en fonction du temps. Les temps d'injection sont représentés par des lignes verticales noires.	84

Figure 24 : Représentation graphique de la concentration en pénicilline G (ug/kg) en fonction du temps. Les temps d'injection sont représentés par des lignes verticales noires.	86
Figure 25: Concentration plasmatique en CK en fonction du temps pour les 6 chevaux de l'étude. Les CV suivi d'un nombre correspondent aux identifiants des chevaux de l'étude. L'injection intramusculaire de Dépocilline® est réalisée après le prélèvement T0.....	88
Figure 26: Concentration plasmatique des CK en fonction du temps pour les 6 chevaux de l'étude. Les CV suivi d'un nombre correspondent aux identifiants des chevaux de l'étude. L'injection intramusculaire de Duplocilline® est réalisée après le prélèvement T0.	89
Figure 27: Concentration plasmatique des CK en fonction du temps pour les 6 chevaux de l'étude. Les CV suivi d'un nombre correspondent aux identifiants des chevaux de l'étude. L'injection intramusculaire de Pénétavet® est réalisée après le prélèvement T0.....	90
Figure 28 : Comparaison du gonflement et de l'induration générés par l'injection des 3 formulations. Les barres d'erreurs correspondent aux écarts types.	93
Figure 29: Evaluation de l'effet phase des scores d'induration au site d'injection. Les barres d'erreurs affichées correspondent aux écarts types des valeurs.	94
Figure 30: Evaluation de l'effet phase des scores d'induration au site d'injection. Les barres d'erreurs affichées correspondent aux écarts types des valeurs.	95

Liste des abréviations :

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

AUC : Area Under the Curve (aire sous la courbe)

CK : Créatine Kinase

Cl : Clairance

Cmax : Concentration maximale

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

EPA : Effet Post Antibiotique

F : Biodisponibilité

IM : Intramusculaire

IV : Intraveineux

Peni G : Pénicilline G

PK : Pharmacocinétique

PD : Pharmacodynamie

QC : Contrôle qualité

RCP : Résumé Caractéristique Produit

Tmax : Temps correspondant à Cmax

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

Vd : Volume de distribution

Vss : Volume de distribution à l'équilibre

Vz : Volume de distribution de la phase terminale

INTRODUCTION

La lutte contre l'antibiorésistance est un défi majeur et mondial de santé publique. La perte d'efficacité des antibiotiques a des conséquences sur la santé humaine, animale ainsi que sur les différents écosystèmes. La France s'est engagée pour lutter contre l'antibiorésistance avec le plan Ecoantibio. Les objectifs de ce plan sont d'améliorer les conditions de vie des animaux, de faciliter l'accès à des produits autres que les antibiotiques. Une modification durable des pratiques de prescription des antibiotiques semble indispensable pour réussir ce défi.

Dans un contexte de limitation et d'optimisation des antibiotiques en santé animale en relation avec le plan Ecoantibio 2 (2017-2021), il apparaît primordial d'optimiser les traitements antibiotiques recommandés en première intention chez le cheval, afin de limiter l'apparition de résistance bactérienne contre ces derniers.

Chez les équidés, la pénicilline, une bêta-lactamine, est recommandée en première intention contre les coques à Gram positif (dont *Staphylococcus aureus* et les streptocoques), pathogènes prépondérants chez le cheval. Elle est aussi à privilégier dans un premier temps contre les bactéries anaérobies et les pasteurelles.

Sur le plan européen, la pénicilline est l'antibiotique le plus utilisé par les vétérinaires mais quelques inconvénients sont liés à son utilisation, notamment la difficulté d'injections répétées, de volumes importants en intra-musculaire et l'existence de réaction à la procaine. Ces difficultés font qu'elle n'est pas toujours en tête des critères de choix et favorise la prescription d'antibiotiques de seconde voire de troisième intention.

Un des défis de la recherche médicale moderne est donc de limiter l'utilisation des antibiotiques afin de limiter l'apparition de résistances bactériennes. La médecine équine est également concernée, les praticiens doivent choisir un antibiotique, un dosage et une durée de traitement adaptée à l'infection. Une prescription raisonnée des antibiotiques est primordiale pour conserver l'efficacité des molécules disponibles actuellement pour les cliniciens (Cole 2014).

Pour choisir un antibiotique, le praticien doit tenir compte de deux critères majeurs : le patient (son âge, son stade physiologique, son état clinique, le site infecté) et le pathogène possiblement impliqué qui sera déterminant pour le succès de la thérapie (Knottenbelt et al. 2015). Les relations entre l'hôte, l'agent pathogène et les antibactériens (Reed et al. 2018) sont gouvernées par des critères pharmacocinétiques et pharmacodynamiques. Les données pharmacocinétiques et pharmacodynamiques des pénicillines qui existent dans la littérature datent pour la plupart des années 1980-1990. Les doses, les fréquences d'administration, les modes et sites d'injections utilisés lors de ces études sont variables et ne correspondent pas toujours aux posologies recommandées dans les RCP des médicaments disponibles sur le marché français.

Les politiques d'utilisation des antibiotiques ont pour but une meilleure utilisation de ces derniers. L'objectif est de minimiser l'apparition de résistance et favoriser le succès thérapeutique, pour cela :

- Les infections virales ne doivent pas être traitées avec des antibiotiques.
- Des prélèvements doivent être réalisés pour déterminer la nature et la sensibilité de l'agent pathogène.

- Les doses doivent être calculées en fonction du poids du patient et doivent être administrées à un intervalle correct pendant une durée déterminée.
- La voie d'administration doit être choisie attentivement.
- En cas d'échec thérapeutique, une réévaluation complète du cas devra être effectuée pour déterminer s'il s'agit d'une erreur de diagnostic, de sélection de médicament ou d'une éventuelle complication. (Knottenbelt et al. 2015)

Nous nous proposons dans ce manuscrit de réaliser une étude pharmacocinétique et pharmacodynamique de trois formulations commerciales françaises de pénicilline G dans le but d'optimiser le traitement antibiotique en première intention chez le cheval.

Dans une première partie bibliographique, nous ferons un rappel général des notions de pharmacocinétique et pharmacodynamie. Par la suite, nous verrons les propriétés pharmacologiques des bêtalactamines et plus spécifiquement de la pénicilline G.

Dans une seconde partie, expérimentale, nous décrirons le protocole mis en place dans cette étude par un matériel et méthode puis énoncerons les résultats bruts pour aboutir ensuite sur une analyse des données obtenues.

L'objectif final de notre étude est de déterminer les paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de différentes formes de pénicilline G afin de pouvoir proposer des protocoles de traitement efficaces adaptés aux pathogènes rencontrés tout en limitant les volumes injectés ou en augmentant les intervalles d'administration, ceci afin de favoriser la prescription et l'observance de la pénicilline G par rapport à d'autres antibiotiques de seconde ou troisième intention.

PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I) Notions de pharmacocinétique et pharmacodynamie

Dans le traitement contre une infection bactérienne, il est important que la concentration efficace de l'antibiotique soit rapidement atteinte au site d'infection et qu'elle soit maintenue pendant une durée adéquate.

Les effets d'un traitement thérapeutique antibiotique dépendent de la sensibilité de la bactérie à la substance active utilisée, des caractéristiques pharmacocinétiques et de la fréquence d'administration du principe actif (Giguère Steeve et al. 2013 ; Toutain et al. 2002 ; KATZUNG 2018).

A) Pharmacocinétique (PK)

La pharmacocinétique représente l'action de l'organisme sur une substance médicamenteuse (Reed et al. 2018), il s'agit de l'étude de la cinétique de l'Absorption, de la Distribution, du Métabolisme et de l'Excrétion (acronyme ADME) des médicaments et de leurs réponses pharmacologiques, thérapeutiques et toxiques.

Nous allons présenter les différents paramètres impliqués dans ce domaine.

1) Biodisponibilité et liaison aux protéines plasmatiques

➤ Définition de la biodisponibilité

La biodisponibilité (F) est une mesure de disponibilité systémique d'un médicament administré par une autre voie que celle en intraveineuse (IV). Elle décrit comment un principe actif devient disponible pour produire son action biologique.

En pratique, la biodisponibilité est définie comme la quantité de principe actif disponible dans le sang, puisque celui-ci est distribué à l'intégralité du corps (Reed et al. 2018). La quantité disponible de principe actif est exprimée en pourcentage de la dose administrée et est notée **F** (fraction).

La biodisponibilité contrôle l'exposition systémique pour les médicaments administrés par voie extravasculaire, il faut la distinguer de l'absorption.

La biodisponibilité n'est pas seulement influencée par les paramètres d'absorption du médicament mais aussi par la forme posologique et le lieu d'administration. Une estimation du taux d'absorption du principe actif peut être réalisée par le pic de concentration plasmatique (C_{max}) et le temps (T_{max}) pour lequel C_{max} a été atteinte (Giguère Steeve et al. 2013).

Le paramètre Cmax/AUC, qui peut être calculé, correspond au taux d'absorption du médicament. AUC est l'aire sous la courbe de concentration plasmatique pour une dose équivalente.

$$F = \frac{AUC_{\text{voie administration}}}{AUC_{IV}} * 100 = \% \text{ Biodisponibilité.}$$

Une autre formule est également disponible pour déterminer F en fonction des doses extravasculaire et intravasculaire :

$$F\% = \frac{AUC_{\text{voie testée}}}{AUC_{\text{voie référence}}} \times \frac{Dose_{\text{voie référence}}}{Dose_{\text{voie testée}}} \times 100$$

Si F est significativement inférieure à 100%, la dose du médicament doit être augmentée, pour atteindre une concentration systémique en principe actif similaire à une administration en IV (Reed et al. 2018).

$$\text{Dose ajustée} = Dose_{IV}/F$$

➤ Biodisponibilité et voies d'administrations

L'administration par voie intraveineuse d'une substance assure une disponibilité systémique complète de celle-ci. Cette voie assure des concentrations plasmatiques élevées qui permettent d'améliorer la distribution tissulaire mais les concentrations plasmatiques efficaces sont généralement de plus courtes durées que lors d'administration extravasculaire, et de fait nécessitent des administrations plus rapprochées du principe actif.

De nombreuses formulations parentérales peuvent être administrées par voie intramusculaire ou sous-cutanées. La composition de la formulation, la concentration en substance active et la dose totale à administrer déterminent la pertinence de la forme injectable en tenant compte de l'espèce cible.

Le volume d'administration en intramusculaire par point d'injection chez le cheval ne doit pas excéder 20 mL. Le site d'injection choisi pour l'intramusculaire peut influencer le pic de concentration et la biodisponibilité de l'antibiotique (Firth et al. 1986).

L'incomplète disponibilité systémique des formulations parentérales peut s'expliquer par une possible précipitation partielle du principe actif au site d'injection ou par une irritation tissulaire.

En diminuant le taux d'absorption du principe actif, les préparations longues actions assurent une concentration plasmatique efficace prolongée et permettent d'espacer le temps entre les administrations (Giguère Steeve et al. 2013).

➤ Fixation aux protéines plasmatiques

La fixation aux protéines plasmatiques est le taux (%) de médicament fixé aux protéines plasmatiques. Seule la fraction libre est active.

La liaison aux protéines plasmatiques limite la disponibilité immédiate pour la distribution extravasculaire.

Le taux de protéines liées peut influencer la pharmacocinétique du principe actif.

Une classification des médicaments peut être faite selon leur pourcentage de fixation :

- Médicaments fortement fixés (75%)
- Médicaments moyennement fixés (40-75%)
- Médicaments faiblement fixés. (0-40%)

Une autre classification est faite selon si le médicament est une base faible ou un acide faible.

Pour les médicaments dits « acides faibles », l'albumine est presque exclusivement la protéine porteuse, la fixation est réversible et l'affinité est généralement élevée.

Pour les médicaments dits « bases faibles », la protéine porteuse est en partie l'albumine. Pour les bases faibles, les lipoprotéines, les α 1-glycoprotéine et les Y-globulines interviennent aussi de façon importante dans les phénomènes de liaisons (Labaune Jean-Pierre 1988).

Certains paramètres pharmacocinétiques sont influencés par les variations de la fixation protéique d'une substance (Labaune Jean-Pierre 1988):

- Le volume de distribution se trouve largement modifié
- La clairance de façon complexe
- Le temps de demi-vie.

2) *Clairance plasmatique*

La clairance plasmatique est la capacité de l'organisme à éliminer un médicament (exprimée en volume par unité de temps). Ceci comprend donc le métabolisme et l'excrétion du principe actif. La clairance plasmatique ou clairance totale est utilisée pour contrôler l'exposition systémique du médicament et permet les extrapolations posologiques. Elle est potentiellement diminuée lors d'insuffisance hépatique ou rénale selon les molécules.

La clairance plasmatique est probablement le paramètre pharmacocinétique le plus important pour définir un schéma posologique pour un principe actif et est nécessaire pour calculer des ajustements de doses (Giguère Steeve et al. 2013).

En général, la clairance plasmatique est la somme des clairances hépatiques et rénales et s'expriment en ml/minxKg.

$$\underline{\underline{Clairance\ plasmatique = Clairance\ hépatique + Clairance\ rénale}}$$

Contrairement au volume de distribution, les valeurs de clairance doivent être interprétées en prenant en compte le débit cardiaque de l'espèce considérée. Etant donné que la plupart des médicaments sont éliminés principalement par des mécanismes rénaux et hépatiques, le taux E d'Excrétion est défini par la relation suivante :

$$E = \frac{\text{Clairance totale}}{Q_c}$$

Avec Q_c = débit cardiaque

Sachant que les reins et le foie reçoivent 50% du débit cardiaque, l'E global est considéré élevé s'il est supérieur à 0.35, moyenne pour une valeur d'environ 0.15 et faible pour des valeurs inférieures 0.05. Pour les chevaux ayant un débit cardiaque de 55 ml/Kg/min, on considère qu'une clairance élevée a pour valeur 19 ml/Kg/min, une clairance moyenne de 8.5 mL/kg/min et faible pour des valeurs de 3.6 mL/Kg/min (Reed et al. 2018).

La clairance corporelle est utilisée pour la détermination de doses à l'aide de la formule suivante :

$$\frac{Dose}{24h} = \frac{Cl}{F} \times C_{cible}$$

Avec : Cl, clairance plasmatique ; F, biodisponibilité de la molécule étudiée et C_{cible} la concentration souhaitée en principe actif.

➤ Clairance rénale

L'excrétion rénale est la voie d'élimination principale des médicaments.

La prise en charge du principe actif par le rein comprend une filtration glomérulaire, une sécrétion tubulaire active ainsi qu'une réabsorption tubulaire (Reed et al. 2018).

La clairance rénale est définie par la relation :

$$Cl_R = Cl_F + Cl_S - F_R$$

Où Cl_R est la clairance rénale totale, Cl_F est la clairance liée à la filtration glomérulaire et Cl_S est attribué à la sécrétion tubulaire et F_R la fraction de médicament réabsorbé par le tubule qui retourne à la circulation.

➤ Clairance hépatique

L'élimination non rénale des médicaments serait attribuable principalement à des biotransformations (due au métabolisme hépatique) et à l'excrétion biliaire. La clairance d'un médicament par le foie est déterminée par :

$$Cl_H = (Q_H) \times (ER_H)$$

Où Q_H est le flux sanguin hépatique et ER_H la capacité intrinsèque du foie à extraire le médicament (Reed et al. 2018).

3) *Volume de distribution*

➤ Définition et généralités

Le volume de distribution (Vd) est une constante de proportionnalité entre la quantité de médicament dans l'organisme et les concentrations plasmatiques une fois l'équilibre atteint. Elle est exprimée avec des unités de volume (L/Kg) (Labaune Jean-Pierre 1988 ; KATZUNG 2018).

La valeur numérique de Vd peut donner une indication de la distribution du principe actif dans l'organisme. La distribution d'un médicament est déterminée par sa capacité à traverser les membranes biologiques et à atteindre les tissus en dehors du système vasculaire.

Les caractéristiques physiques de la molécule du médicament déterminent ses capacités à traverser les membranes biologiques, ces paramètres sont : l'ionisation, la solubilité lipidique, la taille moléculaire et le degré de liaison des protéines (Reed et al. 2018).

Dans la littérature, trois volumes de distribution sont décrits : le volume du compartiment central (V_{dc}), le volume de distribution à l'état d'équilibre ($V_{d_{ss}}$) et le volume de distribution calculé par la méthode des aires ($V_{d_{area}}$) (Reed et al. 2018).

Juste après une dose en intraveineuse, la concentration plasmatique du médicament est maximale.

Le volume du compartiment central (V_{dc}) est le volume apparent à partir duquel se produit l'élimination du médicament par les reins et le foie qui appartiennent au compartiment central. Il permet de calculer des doses de charges qui permettent d'atteindre immédiatement les concentrations efficaces (Reed et al. 2018).

$$V_{dc} = \frac{Dose}{C_0}$$

Avec C_0 la concentration au temps zéro.

Un médicament administré par voie veineuse se distribue rapidement dans le milieu extracellulaire. Si la molécule ne traverse pas facilement les membranes lipidiques, elle restera principalement dans le fluide extracellulaire et la concentration plasmatique de cette molécule sera élevée. Au contraire, des principes actifs qui traversent bien les membranes se distribueront dans les tissus.

Pour les médicaments hautement solubles, le V_{dc} est supérieur à 1L/kg, ce volume est souvent considéré comme le volume de distribution à l'état stable.

La valeur de V_d lorsque le pseudoéquilibre est atteint est :

$$V_{d \text{ area}} = Dose \times \frac{AUC_0}{\beta}$$

Avec AUC_0 aire sous la courbe la concentration plasmatique et β la constante d'élimination.

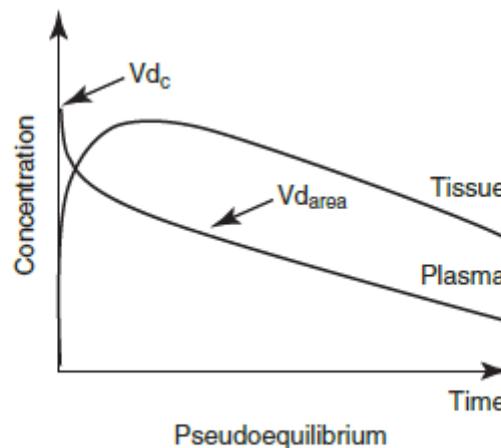


Figure 1: Représentation graphique de la différence entre le volume du compartiment central et le volume de distribution $V_{d_{area}}$. Source : (Reed et al. 2018)

Dans la plupart du temps, après une seule dose intraveineuse, le médicament est distribué et commence à être éliminé de façon simultanée.

Dans le cas d'une perfusion intraveineuse ou d'un régime à doses multiples, après un temps donné, le taux d'entrée de principe actif dans l'organisme sera égal à son taux d'élimination, c'est l'état d'équilibre où l'organisme peut être considéré comme un système fermé. Le V_d

utilisé dans ce cas est le $V_{d_{ss}}$ (Volume de distribution à l'état stable) définie par la relation si dessous :

$V_{d_{ss}}$ = Principe actif dans l'organisme à l'état stable / Concentration dans le plasma

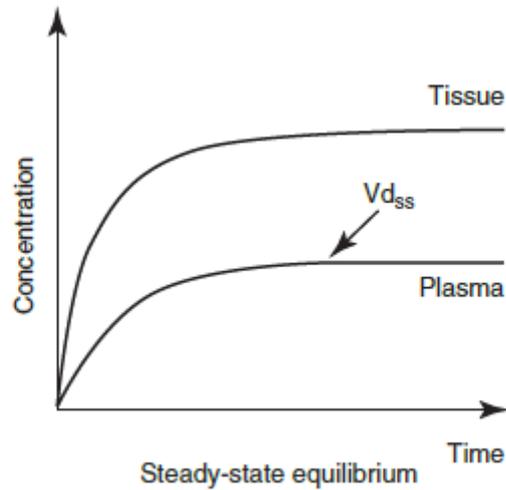


Figure 2: Représentation graphique du volume de distribution quand les concentrations plasmatiques sont mesurées à l'état d'équilibre. Source: (Reed et al. 2018)

<p>LOW-VD DRUGS (<0.3 L/KG)</p> <p>Penicillins Cephalosporins Aminoglycosides Nonsteroidal antiinflammatory drugs</p> <p>MEDIUM-VD DRUGS (>0.3–<1 L/KG)</p> <p>Phenobarbital Sulfonamides Prednisolone Rifampin</p> <p>HIGH-VD DRUGS (>1 L/KG)</p> <p>Macrolides Tetracyclines Fluoroquinolones Chloramphenicol Metronidazole Trimethoprim Dexamethasone Furosemide Ketamine Diazepam Firocoxib</p>
--

Figure 3: Volume de distribution de certains médicaments utilisés couramment chez le cheval. Source : (Reed et al., 2018)

➤ Utilisation clinique du volume de distribution

- Vd_c est utilisé pour prédire la concentration plasmatique initiale du médicament après un bolus IV lorsqu'une dose de charge est nécessaire pour atteindre rapidement les concentrations thérapeutiques.
- Vd_{ss} est utilisé pour calculer la dose de charge quand il est nécessaire d'atteindre rapidement les concentrations à l'état d'équilibre.
- Vd_{area} est utilisé pour prédire la quantité de médicament restante dans l'organisme.

➤ Paramètres influençant le volume de distribution

Le volume de distribution dépend principalement de la fixation protéique du composé, des propriétés physicochimiques de la substance mais également du taux d'irrigation des tissus ainsi que de l'affinité particulière possible de certains organes avec la substance. Lors d'états pathologiques ou de changements physiologiques, certains paramètres cités ci-dessus peuvent être modifiés et de ce fait le Vd aussi (Labaune Jean-Pierre, 1988).

Les médicaments avec des valeurs de Vd importantes sont généralement très liposolubles, leur Vd ne sera donc que peu affecté par des variations de volume d'eau totale et ne nécessitent pas d'ajustement de doses.

Néanmoins, les médicaments avec de faibles valeurs de Vd comme la pénicilline sont plus affectés par des états pathologiques et peuvent nécessiter des ajustements de doses.

Les états de coliques chez les chevaux et le pourcentage d'eau physiologique augmentés chez les poulains nouveau-nés (80% contre 60% pour les adultes) sont des exemples de cas où le Vd de médicament peut être modifié. (Reed et al. 2018)

4) *Temps de demi-vie*

C'est le temps nécessaire pour diviser par deux les concentrations plasmatiques lorsqu'on se trouve dans la phase terminale de l'élimination du médicament. Il permet de définir l'intervalle d'administration et de prédire le délai nécessaire pour atteindre l'équilibre.

Le temps de demi-vie est contrôlé par la clairance plasmatique et le volume de distribution. Les variations du temps de demi-vie sont le plus souvent liées à des modifications de clairance plasmatique.

Pour les voies intramusculaire et sous-cutanée, les temps de demi-vies sont généralement plus longs que pour la voie intraveineuse.

Le temps de demi-vie d'un médicament détermine le temps nécessaire pour atteindre l'état d'équilibre lors d'administrations répétées (Toutain 2012).

$$\text{Temps de demi - vie} = \frac{0.693 \times \text{Volume de distribution}}{\text{Clairance plasmatique}}$$

B) Pharmacodynamie (PD)

La pharmacodynamie (PD) est l'étude de l'exposition de l'organisme au médicament et de ses relations avec les effets du médicament. Elle décrit l'action médicamenteuse et les réponses des bactéries dans le cadre des antibiotiques. Cette approche permet également d'établir des relations entre les doses et les effets en introduisant les connaissances sur les différentes étapes qui vont conduire à une réponse thérapeutique (Reed et al. 2018 ; Mckellar et al. 2004).

Il existe trois paramètres pharmacodynamiques qui sont importants à prendre en compte : l'efficacité, la puissance et la sélectivité de la substance utilisée (Toutain 2012).

- L'efficacité représente l'effet maximum (Emax) que l'on peut avoir avec une concentration maximale.
- La puissance d'un médicament correspond à la concentration plasmatique permettant d'obtenir la moitié d'Emax. On peut dire d'une substance qu'elle est puissante lorsque ses effets thérapeutiques peuvent être obtenus avec de faibles concentrations.
- La sélectivité d'une substance est le fait que les effets désirés soient bien séparés des effets indésirables. Elle est évaluée par la pente de la relation dose-effet.

L'indice utilisé pour caractériser la pharmacodynamie des antibiotiques est la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) : c'est la plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe toute croissance visible d'une souche bactérienne après 18-24 heures de culture à 37°C. Cette valeur caractérise l'effet bactériostatique d'un antibiotique. Plus la valeur de la CMI est faible, plus la souche est sensible (Cole 2014).

Il existe aussi la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) : plus petite concentration pour avoir un effet bactéricide.

La CMI et la CMB sont les deux paramètres majeurs utilisés pour quantifier l'effet d'un antibiotique contre un agent pathogène infectieux. Ces paramètres sont de bons indicateurs de la potentielle interaction entre l'organisme pathogène et la substance active. Cependant, ils ne donnent pas d'information sur l'activité antimicrobienne au cours du temps (Craig 1998).

Des tests de sensibilité *in vitro* permettent de déterminer l'efficacité des antibiotiques dans le but de faciliter le choix de ces derniers selon les situations. Les seuils « Breakpoints » sont définis à partir des CMI pour classer les isolats selon la probabilité d'efficacité de traitement. Lorsque la probabilité d'efficacité de traitement est élevée, la souche est dite sensible et dans le cas où le traitement serait plus susceptible d'être inefficace, elle est décrite comme intermédiaire ou résistante. Des groupes internationaux comprenant le Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) et le European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) ont déterminé des « breakpoints » destinés à une application clinique qui sont basés sur des paramètres pharmacodynamiques et pharmacocinétiques. (Potier, Durham, 2019 ; Papich 204).

1) Les indices PK/PD

La pharmacocinétique et la pharmacodynamie sont interdépendantes. En effet, les effets de la pharmacocinétique (PK) déterminent la quantité de médicament qui atteint le site d'action et d'autre part, l'intensité d'un effet pharmacodynamique est associée à la concentration du médicament sur le site d'action (Reed et al. 2018).

La relation entre l'exposition systémique d'un organisme à un principe actif et la correspondance avec les effets cliniques et microbiologiques est appelé relation PK/PD. Cette relation, à son tour, détermine la dose, la fréquence d'administration, et la durée de traitement nécessaires pour atteindre l'effet clinique et microbiologique désiré (Giguère Steeve et al. 2013 ; Toutain et al. 2002)

Avec ces indices on va définir si un antibiotique est plutôt bactéricide ou bactériostatique, selon si la CMI est plus ou moins proche de la CMB :

- Antibiotique bactériostatique lorsque $CMB \gg CMI$ (autour de la CMI, il y a seulement de la stase, pas d'effet bactéricide).
- Antibiotique bactéricide lorsque $CMB \geq CMI$ (lorsque l'effet bactéricide arrive avec un facteur 2 ou 4)

En fait, tous les antibiotiques sont bactériostatiques et ils sont bactéricides seulement au-delà d'une certaine concentration.

Les indices PK/PD sont corrélés avec l'efficacité et dépendent de ce fait de la famille d'antibiotique et du type d'activité antibactérienne (figure 4) :

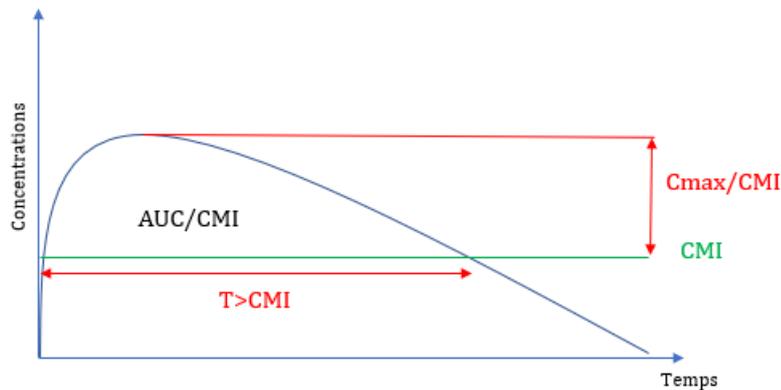


Figure 4: Indices PK/PD et relations entre paramètres. L Chapuis

- L'action des AB concentration-dépendants est corrélée aux indices AUC/CMI et Cmax/CMI (intensité).

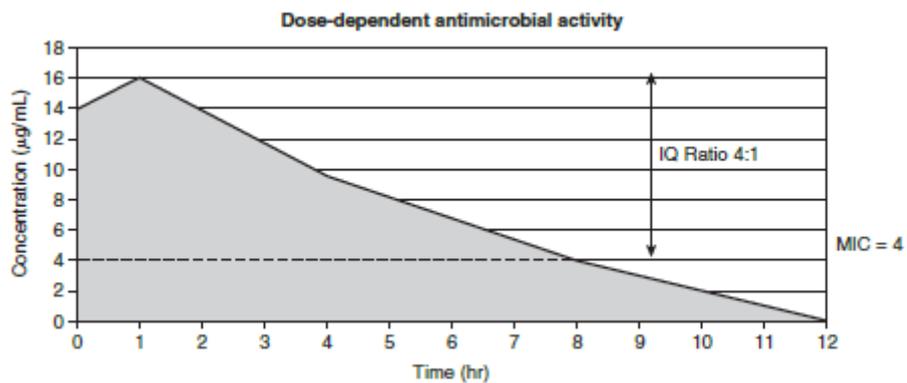


Figure 5: Pour les antibiotiques concentration-dépendants, le quotient inhibiteur et l'aire sous la courbe sont les facteurs déterminants l'efficacité clinique. Source : Internal Equine Medicine 4th Edition

- L'action des AB temps-dépendants est corrélée à l'indice $T > CMI$ (durée).

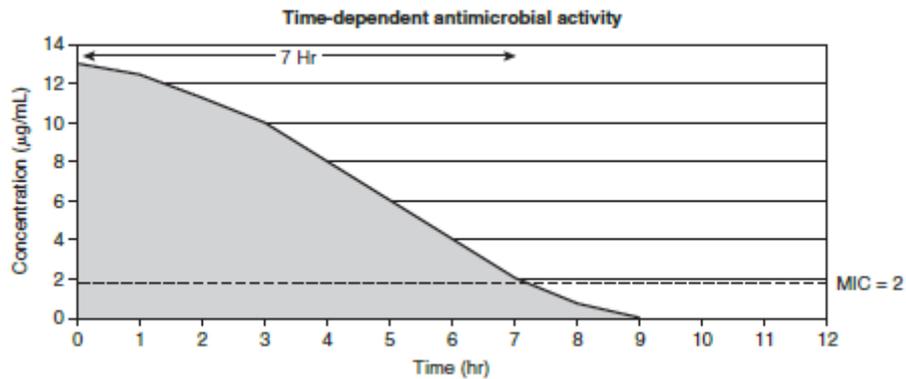


Figure 6: Pour les antibiotiques temps dépendant, le temps durant lequel la concentration est supérieur à la CMI du pathogène détermine l'efficacité clinique. Source : Internal Equine Medicine 4th Edition

- L'action des AB à la fois temps et concentration-dépendants est corrélée à l'indice AUC/CMI qui associe l'intensité et la durée d'action de la molécule.

Paramètres	Exemples de molécule
$T > CMI$ <i>Temps supérieur CMI</i>	Pénicillines, céphalosporines, macrolides, clindamycine
$AUC_{24\text{heures}} / CMI$ <i>(Air sous la courbe pendant 24h)</i>	Aminoglycosides, fluoroquinolones, azithromycine, tétracyclines, vancomycine
C_{max} / CMI <i>(Pic/CMI)</i>	Aminoglycosides et fluoroquinolones

Figure 7 : Exemples d'antibiotiques et des paramètres PK/PD qui déterminent leur efficacité.. Inspiré de Craig et al 1998

2) Effets post-antibiotiques

L'Effet Post Antibiotique (EPA) est le temps supplémentaire requis pour une croissance d'un log10 après dilution au 1/100^{ème} de l'inoculum.

L'effet post-antibiotique fait référence à la persistance de la suppression de la croissance bactérienne suivant une exposition à un antibiotique (Craig 1998). L'EPA peut être considéré comme le temps pour un organisme de récupérer des effets après l'exposition à un antibiotique.

Les effets post antibiotiques sont courts voire inexistantes pour les bacilles Gram négatifs après une exposition aux β -lactamines contrairement aux organismes Gram positifs qui montrent un EPA (Papich 2014). Le mécanisme de l'EPA est varié. Pour les β -lactamines, il comprend le temps nécessaire à l'organisme cible pour synthétiser de nouvelles protéines de liaisons avec la pénicilline (Mckellar et al. 2004).

Il y a des différences entre l'effet post antibiotique mesuré *in vitro* et *in vivo*. La plupart du temps, l'EPA est plus long *in vivo* qu'*in vitro*. Cependant, un effet post antibiotique est observé *in vitro* et non *in vivo* pour des streptocoques après exposition à la pénicilline et aux céphalosporines (Craig 1998).

3) Détermination des schémas posologiques

Un schéma posologique est composé d'une dose et de la fréquence d'administration de ces doses.

Dans le cadre d'une infection, la relation entre l'hôte, les bactéries et le médicament peut être très complexe. La concentration de médicament au site d'infection est supposée d'une grande importance dans la détermination de l'efficacité du médicament. Dans de nombreux cas, le site de l'infection se situe dans le fluide extra-cellulaire, mais peut, également, se situer dans des cellules ou d'autres sites protégés (Reed et al. 2018).

➤ Dose et intervalle d'administration

Deux descripteurs sont nécessaires à la détermination d'un schéma posologique avec administrations multiples. La dose (D) et l'intervalle entre deux doses (τ).

Le profil résultant est caractérisé par la concentration maximale (C_{max}) et la concentration minimale (C_{min}). La forme d'un régime à doses multiples dépend de la relation entre le temps de demi-vie (T_{1/2}) d'un médicament donné et de l'intervalle entre deux doses (τ).

On considère que si la seconde administration d'un médicament est réalisée après l'élimination complète ($\tau \gg 5 \times T_{1/2}$) de la première dose, le profil de concentration de cette seconde dose est équivalente à celle de la première. Ce régime d'administration n'engendre aucun phénomène d'accumulation de la substance dans le corps.

La situation la plus fréquemment rencontrée est l'administration d'une seconde dose avant que la première ne soit complètement éliminée de l'organisme. Dans ce cas, les concentrations plasmatiques du médicament continueront à s'accumuler tant que des administrations régulières seront maintenues. Cette accumulation peut s'arrêter ou atteindre un état d'équilibre quand

l'intervalle entre deux doses correspond à la quantité éliminée de médicament pendant cet intervalle.

Par conséquent, l'état d'équilibre peut être défini comme étant l'intervalle entre deux doses pour lequel l'aire sous la courbe de cet intervalle est équivalent à l'aire sous la courbe après une administration unique de médicament. L'administration répétée de plusieurs doses à un intervalle τ défini de cette manière, permet l'obtention d'un profil de concentration identique avec les mêmes C_{max} et C_{min} . L'intervalle entre deux doses pour maintenir les C_{max} et C_{min} souhaités peut être calculé par l'équation suivante (Riviere 2011):

$$\tau = 1.44 * T_{1/2} * \ln\left(\frac{C_{max}}{C_{min}}\right)$$

Avec $T_{1/2}$ temps de demi-vie.

➤ Importance de la relation PK/PD

Plusieurs indices PK/PD sont proposés pour prédire le succès ou l'échec d'un plan thérapeutique. Trois sont importants et semblent suffisants pour prédire l'efficacité d'un traitement antibiotique. (Toutain et al. 2002). Ces trois indices PK/PD sont :

- $T > CMI$ (durée pendant laquelle la concentration plasmatique est supérieure à la CMI) pour les antibiotiques temps-dépendants.
- AUC/CMI et C_{max}/CMI pour les antibiotiques concentration-dépendants.

Nous nous intéressons plus spécifiquement à l'indice $T > CMI$ pour la détermination d'un schéma posologique car la pénicilline G est un antibiotique temps-dépendant.

Le paramètre $T > CMI$ est assez facilement évalué en regardant la courbe de concentration plasmatique en fonction du temps de la molécule d'intérêt et est généralement exprimé en pourcentage de l'intervalle entre deux doses. Il est cinétiquement plus compliqué et dépend du temps de demi-vie ($T_{1/2}$). Le $T_{1/2}$ est un paramètre hybride qui dépend de la clairance plasmatique et de la distribution du médicament dans l'organisme. (Toutain et al. 2002 ; Riviere 2011 ; Riviere Jim E, Papich Mark G 2009).

Dans la littérature, il est admis que la détermination d'un schéma posologique pour les pénicillines doit se baser sur le temps pendant lequel la concentration plasmatique en pénicilline G est supérieure à la CMI (Mckellar et al. 2004 ; Mouton et al. 2012). Il existe encore un grand débat sur combien de fois la concentration plasmatique doit être supérieure à la CMI et sur la durée pendant laquelle elle doit l'être. Dans certaines publications, on trouve que le $T > CMI$ doit être compris entre 50%-100% avec une concentration de référence étant la CMI (Papich 2014). Dans d'autres, il est mentionné qu'en général, pour les β -lactamines, une concentration comprise entre 1 à 5 fois la CMI pendant 40 à 100% de l'intervalle entre deux administrations est considérée comme appropriée sinon spécifique (Gunderson et al. 2001). Cependant, pour des animaux en neutropénie, il est nécessaire d'avoir $T > CMI$ pendant au minimum 90% voire 100% du temps entre deux administrations. Ces facteurs de succès thérapeutiques dépendent du médicament, du pathogène et du site d'infection. Dans le cas d'infections profondes, la pénétration jusqu'au foyer infectieux peut nécessiter une concentration sanguine élevée car la

distribution se fait par diffusion simple selon un gradient de concentration.

De ce fait, l'activité et la distribution d'un antibiotique temps-dépendant peuvent quelque fois être associées aux paramètres C_{max} et AUC_{0-24h} . Une concentration plus importante que la CMI peut avoir son importance surtout dans la lutte contre l'apparition de mécanismes de résistances bactériennes aux antibiotiques (Mckellar et al. 2004).

En résumé, l'intervalle entre deux doses (τ) doit permettre d'avoir un $T > CMI$ compris entre 50 et 100% de τ avec une concentration multiple de 1 à 5 fois la CMI. Le temps de demi-vie est souvent choisi comme intervalle entre deux doses.

II) Caractéristiques des antibiotiques de la famille des B-lactamines

Les bêtalactamines constituent l'une des familles d'antibiotiques les plus importantes, aussi bien par le nombre et la diversité des molécules utilisées que par leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes.

La grande variété de leurs modes d'administration, leur large spectre d'activité antibactérien associé à une action bactéricide, une bonne diffusion tissulaire, une bonne tolérance et un faible nombre d'interactions médicamenteuses, expliquent l'importance de leur utilisation, (seules ou en association) depuis plus de 60 ans. (Giguère Steeve et al. 2013 ; Dhaese et al. 2020)

Il s'agit d'une famille d'antibiotiques bactéricides par inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne. En effet, les β -lactamines agissent en inhibant l'activité de transpeptidases et d'enzymes appelées *Penicillin binding proteins* (PBPs). (Reed et al. 2018 ; Giguère Steeve et al. 2013). La différence d'activité entre les β -lactamines provient en partie de la différence d'affinité de la substance avec la PBPs. La différence de sensibilité entre les bactéries Gram négatif et les Gram positifs dépend des récepteurs aux PBPs, de la quantité de protéoglycane et de la capacité de la substance à traverser la paroi cellulaire. Les bactéries Gram négatifs ont une couche supplémentaire de lipopolysaccharides qui diminue la pénétration des antibiotiques. De ce fait, les bactéries Gram positif sont généralement plus sensibles que les bactéries Gram négatives aux β -lactamines (Giguère Steeve et al. 2013 ; Reed et al. 2018).

Le spectre est de ce fait Gram+ ou Gram+ et Gram- selon la sensibilité des Gram-.

Les β -lactamines ont un caractère acide (fonction acide carboxylique ionisée *in vivo*, essentielle à l'action) ou amphotère (si fonction amide supplémentaire). Leur excrétion est urinaire ou biliaire.

A priori leur toxicité iatrogène est faible (action sur la bactérie seulement) mais on trouve deux inconvénients :

- contre-indication chez les animaux à flore commensale Gram+ (chevaux, lapins, cobayes) car elle peut être remplacée par une flore Gram- responsable de coliques.
- fort pouvoir allergène (Giguère Steeve et al. 2013 ; Reed et al. 2018).

On retrouve aussi une toxicité des résidus dans les productions animales : action allergène et effet antibactérien dans les produits laitiers.

Il existe deux familles dans cette superfamille :

- Les pénicillines
- Les céphalosporines

Ce sont des antibiotiques temps-dépendants, actifs sur les bactéries en phase exponentielle de croissance, donc dans le cas de phénomène aigu.

Le temps pendant lequel la concentration plasmatique en antibiotique est supérieur à la CMI ($T > CMI$) est le seul paramètre pharmacocinétique/pharmacodynamique corrélé avec l'efficacité des β -lactamines.

Des études sur des infections animales montrent que la concentration en β -lactamines ne doit pas forcément excéder la CMI pendant 100% de l'intervalle entre deux doses pour avoir un effet antibactérien significatif (Craig 1998 ; Toutain et al. 2002). La valeur cible pour les antibiotiques temps-dépendant comme les β -lactamines est d'avoir un temps supérieur à la CMI pendant 50 à 80% de l'intervalle entre deux doses pour envisager un succès thérapeutique (Craig 1998).

Pour les staphylocoques, le $T > CMI$ pourrait être rallongé par l'effet post antibiotique. En effet, l'EPA de la pénicilline G *in vivo* n'a été démontré que pour les staphylocoques. (Craig 1998 ; Papich 2014 ; Riviere 2011 ; Riviere Jim E, Papich Mark G 2009).

A) Généralités sur les pénicillines

1) Propriétés pharmacocinétiques

Les pénicillines sont majoritairement sous forme ionisée dans le plasma, ont des volumes de distribution faibles (0,2-0,3L/kg) et ont des courtes demi-vies (0,5-12 heures) chez toutes les espèces d'animaux domestiques.

Après absorption, elles sont largement distribuées dans les fluides extracellulaires du corps, mais franchissent peu les membranes biologiques quand elles sont sous forme ionisée et sont peu liposolubles (Giguère Steeve et al. 2013 ; Plumb 2018).

Les pénicillines sont éliminées par voie rénale, donc leur concentration est élevée dans les urines. L'excrétion rénale implique la filtration glomérulaire et tubulaire.

2) Interactions avec les autres médicaments

Elles ont une action synergique avec les aminoglycosides contre beaucoup de bactéries.

B) La pénicilline G

La pénicilline a été découverte en 1928 par Alexander Flemming. Il a observé que les moisissures de *pénicillium* inhibaient la croissance des staphylocoques. En 1940, la pénicilline a été isolée et depuis plus d'une quarantaine de pénicillines ont été identifiées. Certaines sont des pénicillines naturelles comme la pénicilline G et d'autres sont produites par synthèse. (Riviere Jim E, Papich Mark G 2009).

Dans cette partie, nous détaillerons en particulier les propriétés de la pénicilline G également appelée benzylpénicilline. En effet, les trois substances étudiées dans la partie expérimentale sont trois formes différentes de pénicilline G.

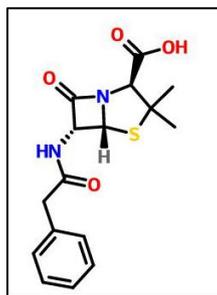


Figure 8: Molécule de Benzylpénicilline

1) Propriétés chimiques

La pénicilline G a une action sur les Gram + et est instable par voie orale. Il n'y a donc pas d'administration par voie orale, car chez les ruminants elle est néfaste à la flore ruminale et elle peut être hydrolysée dans l'estomac acide des carnivores (Giguère Steeve et al. 2013).

La benzylpénicilline requière des administrations fréquentes du fait de son excréation rapide ; de ce fait, des formes longues actions avec de la procaïne sont devenues les formes les plus utilisées. Même si le temps de demi-élimination est le même, le temps de demi-absorption est plus important.

Un temps d'absorption différé signifie aussi un pic moins élevé de concentration.

2) Formes galéniques

Il existe plusieurs formes galéniques :

- Des sels avec des bases organiques liposolubles (procaïne, benzathine) : suspension aqueuse ou solution huileuse. La dissociation est lente donc le pic d'absorption est retardé et l'absorption est étalée dans le temps.

- Des sels avec des bases minérales hydrosolubles (sodium, potasse) : poudre à solubiliser (mauvaise conservation en solution aqueuse car hydrolysable). La dissociation est instantanée en milieu aqueux d'où un pic d'absorption rapide et une absorption de courte durée.

- Des esters avec des alcools : on forme des prodrogues liposolubles (pénéthamate). Il y a activation seulement lors d'une hydrolyse enzymatique par des estérases dans le sang, le foie et le tube digestif.

Les produits à base de pénicilline procaine ont une autorisation de mise sur le marché (AMM) pour une administration par jour par voie intramusculaire. Les recommandations pour les produits combinés sont une administration en IM ou SC tous les deux jours.

Les formulations à base de pénicilline sodique ou pénicilline potassique sont des produits de la médecine humaine, hors AMM et peuvent être utilisés par voie intraveineuse préférentiellement, les voies intramusculaires ou sous cutanée étant très douloureuses. (Reed et al. 2018 ; Younkin et al. 2019).

3) Absorption

Les pénicillines sont des acides faibles. Leur pKa est 2,5 donc elles sont principalement sous forme ionisées dans le plasma. Elles sont très hydrosolubles et très peu liposolubles ce qui explique leur action extracellulaire. Le volume de distribution est faible.

La pénicilline G est faiblement absorbée par voie orale car elle est hydrolysée rapidement du fait de l'environnement acide de l'estomac (Bryskier et al. 1999 ; Plumb 2018 ; Giguère Steeve et al. 2013).

Les formes sodique et potassique de pénicilline G sont les seules formes injectables par voie intraveineuse.

La procaine pénicilline est absorbée plus lentement après administration intramusculaire que les formes sodique ou potassique et de ce fait induit des concentrations plasmatiques plus faibles mais plus durables (Firth et al. 1986).

La benzathine pénicilline est la forme la moins soluble de pénicilline G, elle est absorbée lentement et entraîne une concentration plasmatique durable mais sub-thérapeutique (Firth et al. 1986).

Le taux d'absorption après injection intramusculaire varie selon le site d'administration, il est plus rapide et plus élevé lors d'administration dans les muscles de l'encolure que lors d'injections dans l'arrière-main (Firth et al. 1986).

4) Distribution

Le volume de distribution de la pénicilline sodique est de 0,72 L/kg (Firth et al., 1986 ; Giguère Steeve et al., 2013). La pénicilline est majoritairement distribuée dans le fluide extracellulaire. De ce fait, la concentration thérapeutique n'est pas atteinte dans des sites d'infections séquestrées (Reed et al. 2018).

La diffusion de la pénicilline dans les tissus et les fluides se produit tant que la concentration plasmatique en protéines est supérieure à celle des tissus. Les reins, le foie et les poumons sont des organes pour lesquels des concentrations élevées en pénicilline peuvent être atteintes. Néanmoins, la pénicilline n'atteint pas le compartiment du système nerveux central. (Riviere Jim E, Papich Mark G 2009)

5) *Elimination*

L'élimination de la pénicilline est essentiellement rénale par filtration glomérulaire et par sécrétion tubulaire active.

La demi-vie d'élimination (ie demi-vie) de la pénicilline G est d'une heure et la clairance totale est de 8,5 +/-1,33 mL/min/kg (Giguère Steeve et al. 2013 ; Bryskier et al. 1999).

6) *Stabilité*

Le noyau β -lactame est sensible à l'attaque nucléophile de l'oxygène cétonique (amplifiée par le cycle aromatique), il y a donc une hydrolyse en milieu acide ce qui entraîne une instabilité de la molécule lors d'une prise par voie orale, le composé formé est alors inactif. Les formes intramusculaires et intraveineuses sont donc privilégiées.

7) *Résistance*

Les bactéries résistantes synthétisent des β -lactamases : enzymes qui attaquent le noyau β -lactame ce qui rend la molécule inactive. Progressivement, de nombreuses espèces bactériennes sont devenues résistantes à la pénicilline G. Les incidences et les répartitions sont variables selon les zones géographiques.

Par exemple, *Staphylococcus aureus* est très rapidement devenue résistant à la pénicilline G après l'introduction de cette molécule en milieu hospitalier. A l'heure actuelle, plus de 80% des souches de *S.aureus* sont résistantes à la pénicilline G en médecine humaine (Bryskier et al. 1999).

8) *Effets indésirables*

Les bêtalactamines ont généralement peu d'effets toxiques même à des doses très supérieures aux doses recommandées.

➤ Effets secondaires possibles des pénicillines en général

Les effets indésirables majeurs sont : les réactions anaphylactiques avec effondrement de l'animal, des réactions d'hypersensibilités modérées avec par exemple crise d'urticaire, fièvre, œdème et sont relativement peu fréquents. (KATZUNG 2018)

Les effets indésirables moins communs sont des anémies hémolytiques et des thrombocytopenies ; elles sont décrites chez l'homme mais pour l'instant non rapportées en médecine vétérinaire (Plumb 2018).

➤ Effets secondaires rapportés pour des formulations spécifiques de pénicilline G

Des réactions telles que des animaux couchés, en difficultés et présentant de la dyspnée ont été montrées après administration intraveineuse de pénicilline sodique, celle-ci doit se faire préférentiellement en IV lente. Il a été aussi décrit que l'administration de pénicilline sodique par voie intramusculaire est douloureuse et mal tolérée chez le cheval (Younkin et al. 2019).

Des réactions d'urticaire peuvent être rencontrées après administration de benzylpénicilline potassique (Olsén et al. 2007).

Des réactions de choc après administration de pénicilline procaine ont également été relevées, notamment lorsque la pénicilline procaine est accidentellement administrée par voie intravasculaire, une extrême stimulation du système nerveux central pouvant en résulter. Les températures élevées augmentent la solubilité de la procaine, c'est pourquoi elle doit être stockée à de faibles températures. Les administrations en intramusculaire doivent être prudentes et même en prenant des précautions, des effets indésirables sont tout de même signalés sur des chevaux. Une administration répétée augmente les risques d'injections intravasculaire et peut augmenter la sensibilité à la procaine à la suite d'une sensibilisation neuronale (Reed et al. 2018 ; Giguère Steeve et al. 2013).

Au site d'injection, une induration plus ou moins associée à un gonflement sont fréquemment observés lors de traitement sur plusieurs jours (Corley, Stephen 2008).

C) Autres formes de pénicilline

➤ La pénicilline V (=Phénoxy méthylpénicilline)

Il s'agit d'une forme administrable par voie orale. Elle diffère de la pénicilline G par le remplacement du groupement benzyle par un groupement phénoxy méthyle (Bryskier et al. 1999).

La demi-vie d'élimination de la pénicilline V administrée par voie orale est de 3,7h et la demi-vie d'absorption est de 0,2h chez le cheval. (Reed et al. 2018)

➤ Les pénicillines du groupe A

Les pénicillines du groupe A sont les aminopénicillines. Elles présentent un groupement aminé en plus à la structure de la benzylpénicilline, ce qui améliore la stabilité du noyau bêta-lactame. L'amoxicilline et l'ampicilline en sont les principales représentantes (Giguère Steeve et al. 2013 ; Bryskier et al. 1999)

➤ Les pénicillines du groupe M

Les pénicillines du groupe M (résistantes aux pénicillinases des germes à Gram +) sont la méthicilline (chef de file), l'oxacilline et la cloxacilline, ces deux derniers composés constituent les isoxazolyl-pénicillines. (Giguère Steeve et al. 2013 ; Bryskier et al. 1999).

D) Utilisations usuelles de la pénicilline G

Les bêtalactamines sont des antibiotiques temps-dépendants, actifs sur les bactéries en phase exponentielle de croissance mais leur efficacité est limitée lors de processus chroniques comme les abcès. Une résistance naturelle est présente pour les mycoplasmes du fait de l'absence de paroi pour ces derniers.

La pénicilline G est l'antibiotique le plus utilisé chez le cheval, essentiellement contre les infections à streptocoques β -hémolytiques, clostridies, lors d'antibioprophylaxie ou pour une antibiothérapie large en association avec un aminoglycoside (Maurin Emmanuel 2017) .

D'après une étude réalisée en 2013, la benzylopénicilline procaine fait partie des antibiotiques les plus utilisés pour les plaies des membres (13.88 %), pour les yearlings toussant avec de la fièvre (6.40%), et pour les toux des chevaux adultes (8.28%) (Hughes et al. 2013).

Le guide de bon usage des antibiotiques édités en 2016 par l'AVEF conseille l'utilisation de la pénicilline en première intention dans de nombreux scénarios tels que :

- Les pneumonies : toux et fièvre sur chevaux adultes, dans 49% des cas.
- Colite/diarrhée des chevaux adultes dans 13% des cas.
- Lymphangite dans 49% des cas.
- Endométrite dans 33% des cas.

Un article de revue (Hardefeldt et al. 2019) fait la synthèse des doses de pénicilline procaine les plus utilisées en pratique courante en Australie et au Royaume Uni. Il en ressort que la dose la plus utilisée est de 22 000 UI/kg toutes les 12h. Dans la plupart des ouvrages, d'articles de revues et de guides de bonnes pratiques, les doses recommandées pour la pénicilline procaine G sont comprises entre 20 000-25 000 UI/kg q 12h.(Plumb 2018 ; Corley, Stephen 2008 ; Wilson 2001)

E) Etat actuel des connaissances/ études sur la pénicilline G chez les équidés

1) Généralités

Les injections intraveineuses de pénicilline sodique sont moins douloureuses et permettent d'atteindre une concentration rapide et élevée de pénicilline dans le sang mais demandent des injections régulières (toutes les 6h) et sont coûteuses. (Younkin et al. 2019)

Les injections intramusculaires de pénicilline sodique ne sont pas indiquées chez le cheval contrairement aux porcs et aux animaux de rentes car elle est plus douloureuse que les injections intramusculaires de pénicilline procaine (Younkin et al. 2019).

2) *Propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques des différentes pénicillines*

➤ Pénicilline G sodique

Après une administration IV de pénicilline G sodique à la dose de 20 000 UI/kg, la distribution moyenne est de 0,38 heures, et la demi-vie de 3,72 heures, le volume de distribution de 0,72 L/kg ce qui correspond à 47% dans le compartiment central (Firth et al 1986).

Le temps de demi-vie de la pénicilline sodique injectée en IV est d'environ de 50mn pour des doses comprises entre 10 000 et 40 000 UI/kg (Love et al. 1983 ; Olsén et al. 2013).

➤ Pénicilline G procaïne

La pénicilline G procaïne est un sel faiblement soluble qui est absorbé lentement après injection intramusculaire ou sous cutanée. La pénicilline procaïne est la forme la plus utilisée de pénicilline.

Les injections intramusculaires de procaïne pénicilline sont peu douloureuses, et demandent des injections moins régulières (toutes les 12h) mais engendrent une moindre concentration et une variabilité de celle-ci dans le plasma (Younkin et al. 2019).

Dans plusieurs études, il a été montré que pour une injection intramusculaire de procaïne pénicilline à la dose de 22 000 UI/kg le pic de concentration plasmatique est obtenu entre 2 et 4 heures après l'injection et atteint des concentrations entre 2.0-2.5µg/mL. La concentration minimale est atteinte au bout de 24h (Kenneth et al. 1984)

La pénicilline G procaïne est capable de maintenir une concentration plasmatique supérieure à 0,25µg/mL avec une fréquence d'administration d'une fois par jour et pour une dose de 22 000 UI/Kg. L'administration 2 fois/ jours de 22 000 UI/kg est préconisée lorsque que l'on souhaite des concentrations minimales variant entre 1 et 2µg/ml (Kenneth et al. 1984).

Les guides de bon usage des antibiotiques et autres recommandations préconisent l'utilisation de la pénicilline G procaïne à une dose de 22 000UI/kg deux fois par jours. (Weese et al. 2008 ; Hardefeldt et al. 2020).

Les différents résultats publiés dans la littérature sont regroupés dans le tableau 2.

➤ Pénicilline G benzathine

La pénicilline G benzathine est un sel insoluble, cette forme est la plupart du temps utilisée dans une formulation longue action de la pénicilline G contenant pour une moitié de la pénicilline G procaïne et pour l'autre de la pénicilline G benzathine (Reed S. M et al. 2004).

Les concentrations thérapeutiques peuvent perdurer pendant 24h à 48h selon les combinaisons et les doses utilisées, toutefois la pénicilline G benzathine utilisée seule est connue pour générer un pic de concentration plasmatique moins élevé que les autres formes (Kenneth et al. 1984). De plus, les chevaux ont des concentrations moins élevées que les autres espèces après des administration en IM de pénicilline procaïne ou pénicilline benzathine pour des doses équivalentes.

L'administration en IV de pénicilline sodique est conseillée lors de situation d'urgences, pour un animal critique. Lors d'une pratique de routine pour le traitement des infections causées par les streptocoques hémolytiques, l'administration en IM de pénicilline procaïne offre une concentration plasmatique de 0.5UI/mL soit plus de 4 fois plus élevée que la CMI des streptocoques les plus résistants les plus fréquemment rencontrés. Cette concentration perdure au moins 20h pour une injection dans le muscle glutéal (Firth et al. 1986).

➤ Le pénéthamate

En raison de ses propriétés physico-chimiques, le pénéthamate présente une aptitude particulière pour franchir la barrière hémato-pulmonaire et pour diffuser dans le parenchyme ainsi que dans les cellules pulmonaires.

Après administration, le pénéthamate est rapidement converti en benzylpénicilline.

Le pénéthamate est une prodrogue à partir de laquelle la benzylpénicilline et le diéthylaminoéthanol sont libérés par hydrolyse. L'activité antimicrobienne du composé est uniquement due à la benzylpénicilline.

Le pénéthamate possède en plus, une activité anesthésique locale, cet effet est également observé avec d'autres esters de diéthylaminoéthanol.

C'est un antibiotique bactéricide de type temps-dépendant. Son spectre d'action concerne essentiellement les bactéries Gram +, en particulier les streptocoques, les staphylocoques et *Corynebacterium* spp. Les CMI₉₀ vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* ont une répartition bimodale : inférieures à 0,1 µg/ml pour les souches non productrices de β-lactamase et supérieures à 0,5 µg/ml pour les autres (Résumé Caractéristiques du Produit).

Peu d'études ont été réalisées sur les paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques du pénéthamate. Une étude de (Hattum, Friton 2003) a étudié la pharmacocinétique du pénéthamate sur des vaches en lactation après injection intramusculaire toutes les 24h pendant 3 jours de Mamysin ® (pénéthamate hydroïde). Après une injection de pénéthamate, la concentration maximale plasmatique de benzylpénicilline de 999 ng/ml a été atteinte pour un T_{max}=598h. Le détail de l'étude pharmacocinétique pour le traitement de mammites chez les vaches laitière est résumé dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1: Paramètres pharmacocinétiques de la benzylpénicilline plasmatique après une injection intramusculaire de Mamysin®. Tableau extrait de l'étude (Hattum, Friton 2003)

	Plasma PK after 1st Injection				Plasma PK after 3rd Injection			
	C _{max} (ng/ml)	t _{max} (hrs)	t _{1/2} (hrs)	AUC _t (ng.h/ml)	C _{max} (ng/ml)	t _{max} (hrs)	t _{1/2} (hrs)	AUC _t (ng.h/ml)
N	8	8	6	8	8	8	6	8
MEAN	732	3.76	4.27	4168	357	5.49	4.32	2521
SD	207	1.26	1.48	447	135	1.42	2.79	507
% CV	28	33	35	11	38	26	64	20
MEDIAN	705	3.99	4.02	4348	322	5.97	3.63	2536
MIN	444	2.05	2.75	3552	151	3.98	1.58	1842
MAX	999	5.98	6.90	4711	567	8.03	8.92	3455

N = number, SD = standard deviation, CV = coefficient of variation, MIN = minimum, MAX = maximum

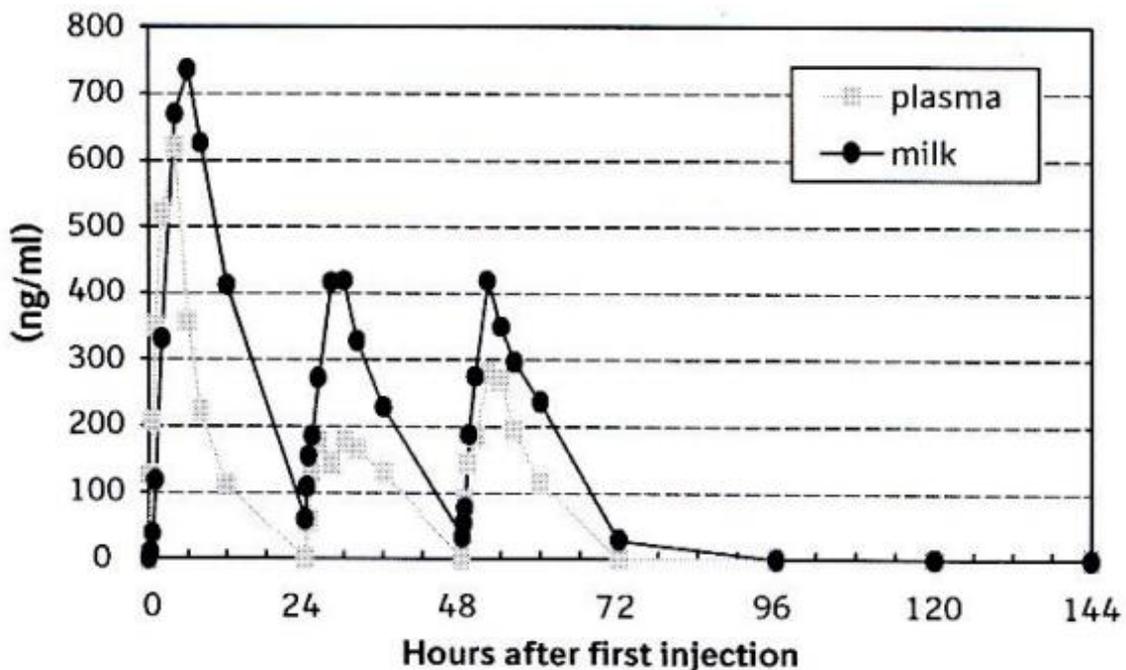


Figure 9: Concentration plasmatique et dans le lait de benzylpénicilline après administration intramusculaire de Mamysin®. Graphique extrait de l'étude (Hattum, Friton 2003)

En ce qui concerne la pratique vétérinaire équine, il est mentionné que le pénéthamate à une meilleure diffusion dans les poumons que la pénicilline G, et serait donc préférable en première intention sur des infections pulmonaires (Med'Vet 2017).

Tableau 2: Tableau récapitulatif des données pharmacocinétiques de certaines formes de pénicilline G.

Source	Molécule utilisée	Dose administrée	Fréquence administration	Voie d'administration	Site injection	Cmax	Tmax	Autres données
(Younkin et al. 2019)	Pénicilline sodique et procaïne pénicilline	22 000 UI/kg	0, 6 et 12h expérience sur 24h	- 2 premières injections IV de pénicilline G sodique - 3 ^{ème} injection IM procaïne pénicilline	-Veine jugulaire - muscle dentelé ventral cervical	1,16-1,27 µg/mL (IV dose) 0,167 µg/mL (0,066-0,336) (IM dose)	2h 8,71h(3-12h)	
(Brown et al. 1984)	Procaïne pénicilline	20 000UI/kg	1 injection	Intramusculaire	Semi-membraneux	2,17+/-0,7 µg/mL	2h	Clairance plasmatique (ml/min/kg) 9,6 +/- 1,12 (poulains) 11,16 +/-1,88 (adultes)
(Kenneth et al. 1984)	Procaïne pénicilline	22 000UI/Kg	1 injection/24h	Intramusculaire		2,06µg/mL	4h	
	Procaïne pénicilline	22 000UI/kg	2 à 12h d'intervalle pendant 5 jours	Intramusculaire		1,59µg/mL	4 après la première injection	
						2,01µg/mL	18h après la première injection	
	Procaïne pénicilline	22 000 UI/kg	1 fois par jour pendant 5 jours	Intramusculaire		2,06µg/mL	4h	
	Procaïne pénicilline G + Benzathine pénicilline	11 000 UI/kg 11 000 UI/kg	1 fois par jour pendant 5 jours	Intramusculaire		0,72µg/ml	2h	
	Procaïne pénicilline G + Benzathine pénicilline	11 000 UI/kg 11 000 UI/kg	Tous les deux jours pendant 5 jours	Intramusculaire		0,55µg/kg	2 à 4h	
Procaïne pénicilline + Benzathine pénicilline	22 000 UI/kg	Tous les deux jours pendant 5 jours	Intramusculaire		0,87µg/ml	4h		
(Uboh et al. 2000)	Procaïne pénicilline G	22 000 UI/kg	1 seule administration	Intramusculaire	Muscle de l'encolure	1,8µg/ml	3,5 h	T1/2=0,62 (0,37-1,52)

(Stover et al. 1981)	Procaïne pénicilline en solution aqueuse	22 000 UI/kg	1 seule administration, 10mL/site	Intramusculaire	Muscle glutéal	1,42µg/ml Reste au-dessus de 0,85µg/ml pendant 12 heures et supérieur à 0,08µg/ml pendant 48h	3h	
(Firth et al. 1990)	Procaine penicilline G	20 000 UI/kg	1 seule administration	Intramusculaire	Muscle dentelé ventral cervical	3,31+/-1,56 UI/ml	4,6 +/-1,3h	T1/2= 10,0+/-1,6h

3) Effet du site d'injection sur la biodisponibilité et les concentrations plasmatiques

La biodisponibilité et la concentration plasmatique dépendent du site d'injection en intramusculaire de la pénicilline procaïne.

La biodisponibilité et les concentrations plasmatiques moyennes en pénicilline sont plus élevées après une injection intramusculaire dans l'encolure ou dans le biceps comparé à une injection dans le muscle glutéal. Une injection de pénicilline procaïne dans le muscle glutéal engendre des concentrations plasmatiques légèrement moins importantes mais plus persistantes dans le temps. Il est rapporté que la biodisponibilité est également moins bonne (Firth et al. 1986).

Le pic de concentration plasmatique le plus élevé est obtenu après une injection IM dans le muscle serratus avec une biodisponibilité plus élevée dans les 12h suivant l'injection. (Firth et al. 1986)

Les paramètres qui nous intéressent tout particulièrement sont ceux de l'injection dans le muscle glutéal. En effet, dans notre étude expérimentale, les injections intramusculaires de pénicilline G ont été faites dans le muscle glutéal.

Les différences pharmacocinétiques entre les sites d'injection sont récapitulées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3: Tableau récapitulatif de certains paramètres pharmacocinétiques après injection de pénicilline procaine G à la dose de 20 000 UI/kg selon le site d'injection. Source : Firth et al 1986

Site d'injection	Cmax (UI/ml)	Tmax (heures)	T1/2 (heures)	Biodisponibilité 0-12h (%)	AUC 0-12h (h.IU/ml)
Sous cutané	1,15 +/-0,45	3,4 +/-2,8	21,8 +/- 8,8	24,5 +/- 9,8	9,83 +/- 4
Muscles pectoraux	2,09 +/- 0,31	2,9 +/-0,9	14,9 +/- 3,4	42,1 +/-6,7	16,6 +/- 3
Muscle dentelé	3,31 +/-1,56	4,6 +/- 1,3	8,0 +/-2,7	69,7 +/-19,8	26,0 +/-10,2
Muscle biceps	2,420+/-1,02	3,3 +/- 1,6	14,9 +/-5,7	52,5 +/-19,8	18,5+/- 6,2
Muscle glutéal	1.52 +/- 0,64	6,2 +/- 1,8	12,8 +/-2,8	34,4 +/-15,4	13,9 +/-6,4

4) Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) des principaux pathogènes sensibles à la pénicilline G

La pénicilline G est l'antibiotique le plus efficace contre les bactéries Gram positives telles que *Streptococcus equi* subsp *zooepidemicus* et *Streptococcus equi* subsp *equi*. La pénicilline est un antibiotique temps dépendant (Ensink et al 2003).

Les streptocoques hémolytiques sont des pathogènes hautement sensibles à la pénicilline avec une CMI comprise entre 0,002 et 0,08µg/mL(donnée provenant d'études américaines pour des organismes issus de chevaux dans les années 1970) (Kenneth et al. 1984).

On trouve dans différentes publications que les β -streptococcus ont une sensibilité proche de 91-100% à la pénicilline G avec une CMI de 0,002-0,08 µg/ml et *Streptococcus zooepidemicus* à 100% avec une CMI de 0,033-0,132 IU/mL (Firth et al. 1986)

Les CMI₉₀ énoncées par (Younkin et al. 2019) sont de 0,06µg/ml pour les streptocoques et de 4.0µg/ml pour les staphylocoques.

Le tableau ci-dessous regroupe des CMI₉₀ mentionnées dans la littérature pour la pénicilline G. Ces différentes CMI sont spécifiques du cheval mais ne proviennent pas de souches européennes.

Tableau 4: Tableau de synthèse regroupant différentes CMI de pathogènes fréquents chez les chevaux.

Source	Bactéries	CM ₁₉₀
(Firth et al. 1986)	<i>B-streptocoques</i>	0,002-0,08 µg/ml
	<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	0,033-0,132 IU/mL
(Kenneth et al. 1984)	<i>Streptocoques hémolytiques</i>	0,002 et 0,08µg/ML.
(Olsén et al. 2013)	<i>S aureus</i>	0,032-0,12 µg/mL
	<i>S. zooepidemicus and S. equi</i> subsp. <i>equi</i> ,	<0,015 µg/mL
(Younkin et al. 2019)	<i>Streptococcus</i> spp	0,06 µg/L
	<i>Staphylococcus</i> spp	4,0 µg/L
(Uboh et al. 2000)	E.coli dans les urines	64µg/ml
(Stover et al. 1981)	<i>Streptococcus equi</i>	0,002-0,08µg/ml
	<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	0,002-0,08µg/ml
	<i>Corynebacterium</i>	0,06-0,25µg/ml
	<i>pseudotuberculosis</i>	La MIC est dépassée au bout de 2h après injection et la concentration reste supérieure durant 12h
(Ensink et al. 1993)	<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	0,015µg/mL

5) Liaison aux protéines plasmatiques

De façon générale, on trouve dans la littérature que la fraction liée aux protéines plasmatiques de pénicilline est entre 52 et 54% (Firth et al. 1986 ; Dürr 1976 ; Bryskier et al. 1999).

III) Etude des principales bactéries pathogènes du cheval

Nous avons recensé, dans la mesure du possible, le maximum de bactéries pathogènes des équidés ainsi que leurs sensibilités à certains antibiotiques. Nous nous sommes focalisés sur la famille des β -lactamines et particulièrement aux céphalosporines et à la pénicilline G.

D'après les résultats de Résapath de 2018 (Clémence Bourély et al. 2019), les principaux genres/espèces bactériennes isolés pour les équidés sont les streptocoques dans 34% des cas, suivi d'*E.coli* dans 17% des prélèvements, *Pseudomonas* spp pour 8% et les staphylocoques à coagulase positive 7%.

➤ Les streptocoques (*Streptococcus* spp)

Les streptocoques sont les principaux agents pathogènes isolés chez les équidés. Ce sont des coques Gram + anaérobies facultatifs. Les pathogènes majeurs sont ceux qui expriment une hémolyse de type β : *Streptococcus equi* subsp *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*), *Streptococcus equi* subsp *equi* (*S. equi*), et *S. dysgalactiae* subsp *equisimilis* (*S. equisimilis*).

Les streptocoques sont retrouvés sur la peau, les voies respiratoires supérieures et dans le tractus génital chez des porteurs sains.

D'après le bilan de Résapath 2018(Clémence Bourély et al. 2019), les streptocoques isolés proviennent essentiellement d'affections de la reproduction.

Streptococcus equi subsp *equi* (*S. equi*) est l'agent infectieux de la gourme qui se traduit par de la fièvre, un écoulement nasal puis parfois la formation d'abcès dans les nœuds lymphatiques de la tête. La morbidité est souvent importante. La mortalité reste faible en dehors des cas atypiques.

Streptococcus equi subsp *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*) est la bactérie la plus fréquemment rencontrée lors des prélèvements pour bactériologie. Elle se rencontre dans les infections respiratoires (associée ou non avec des *Actinobacillus*), des infections de plaies ou du tractus génital. On peut également la trouver dans des abcès de nœuds lymphatiques, des infections oculaires ou articulaires. *S. dysgalactiae* subsp *equisimilis* (*S. equisimilis*) est trouvé dans toutes les localisations précédentes mais en proportion bien moindre (M. peyrus 1998).

D'après le bilan 2018 de Résapath, les souches de *Streptococcus* (*Streptococcus* groupe C et *S. zooepidemicus*), restent systématiquement sensibles à la pénicilline G, dont le marqueur est l'oxacilline -une pénicilline M- (94-97 % de sensibilité selon les pathologies). De plus, les données d'antibiogrammes que nous avons pu recueillir du laboratoire Vetodiag permettent de retrouver une sensibilité de 94% (n=50) à l'Oxacilline pour *Streptococcus equi* subs *equi* et de 95% (n=50) pour *Streptococcus zooepidemicus*.

➤ *Escherichia coli*

E.coli est une bactérie Gram - commensale du tube digestif et est le second pathogène le plus isolé chez les équidés. Elle provient à 69% d'affection de la reproduction (Resapath 2018).

L'origine des infections est souvent due à une contamination fécale ou environnementale. Chez les poulains, les entérobactéries, et plus spécialement *E.coli*, sont les pathogènes les plus fréquents dans les septicémies néonatales. Les localisations secondaires sont les articulations ou le système nerveux central. Chez l'adulte, on retrouve des entérobactéries dans les infections de l'utérus, de plaies, d'articulations, ou du système respiratoire mais dans ce dernier cas avec une fréquence moins importante que les *Actinobacillus* spp.

Les *Escherichia coli* sont naturellement résistantes à la pénicilline G étant donné l'impossibilité d'un passage transmembranaire de la membrane externe de la molécule. (Maddox et al. 2015)

Les souches d'*E.coli* issues d'affections de la reproduction restent sensibles aux céphalosporines de dernières générations telles que le ceftiofur (96%) et le cefquinome (97 %). Néanmoins, la sensibilité pour ces deux antibiotiques diminue pour les *E.coli* issues de pathologies respiratoire (ceftiofur : 90% et cefquinome : 91%) et celles issues des pathologies de la peau et des muqueuses (ceftiofur : 89% et cefquinome : 90%) (Clémence Bourély et al. 2019).

De plus, les données d'antibiogrammes que nous avons pu recueillir du laboratoire Vetodiag, toutes provenances d'*E.Coli* confondues, permettent de retrouver une sensibilité de 83% pour le ceftiofur (n=20) et de 84% pour la cefquinome (n=50).

➤ *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie Gram- aérobique ubiquiste considérée comme pathogène opportuniste. Elle conduit à des surinfections graves. On la retrouve dans les infections de plaies, de l'utérus ou des poches gutturales, le plus souvent en association. *Pseudomonas aeruginosa* a également été identifiée à partir de prélèvements de liquide synovial. (M.Peyrus 1998). Par ailleurs, elles sont principalement prélevées lors de pathologies respiratoires (Resapath 2018).

Les *Pseudomonas aeruginosa* sont toujours considérées comme résistantes à la pénicilline G. Les analyses de sensibilité de ce pathogène se limitent en général à la gentamicine, la cefquinome (cephalosporine de 4^{ème} génération) et à la marbofloxacin. Ces trois derniers antibiotiques sont les seuls pertinents d'un point de vue clinique chez le cheval (Léon et al. 2020). La sensibilité de *Pseudomonas* spp aux céphalosporines de 4^{ème} génération est d'environ 87,5 % en 2019 d'après (Léon et al. 2020)

➤ Les staphylocoques-*Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des coques Gram +. Les principaux pathogènes du cheval sont coagulase positifs (i.e. produisent une enzyme de coagulation) : *Staphylococcus aureus* et *S. intermedius* (Maddox et al. 2015).

Les souches de *Staphylococcus aureus* isolées proviennent essentiellement d'affections cutanées et des muqueuses. Ces souches présentent une sensibilité de 60% à la pénicilline G et restent majoritairement sensibles à la cefoxitine (80%) marqueur de la résistance à la méticilline (Clémence Bourély et al. 2019).

D'après les informations recueillies à l'aide du laboratoire d'analyse Vetodiag, la sensibilité de *Staphylococcus aureus* à la pénicilline G chez le cheval en France est de 32% (n=50), à la cefoxitine 60% (n=50) et de 80% pour la cefovectine (n=50).

Les staphylocoques peuvent également être mis en évidence dans des infections articulaires, du cordon spermatique (après une castration), de l'utérus ou de plaies.

Tableau 5: Etude de la sensibilité de diverses espèces/genres bactériens à la pénicilline

Genre/espèce bactérienne	%Sensibilité Resapath 2018	% Sensibilité Vetodiag	% Sensibilité littérature	Source
<i>Staphylococcus aureus</i>	60	32	59	(Malo et al. 2016)
			57,4	(Bourély et al. 2020)
			43,9	(Léon et al. 2020)
			63 (<i>Staphylococcus spp</i>)	(Miagkoff et al. 2020)
<i>Streptococcus equi subs equi</i>	94-97	94	91 (<i>Streptococcus spp</i>)	(Miagkoff et al. 2020)
			100	(Johns, Adams 2015)
			98,7	(Erol et al. 2012)
<i>Streptococcus equi subs zooepidemicus</i>	94-97	98	100	(Malo et al. 2016)
			91 (<i>Streptococcus spp</i>)	(Miagkoff et al. 2020)
			97,9	(Johns, Adams 2015)
			98,9	(Erol et al. 2012)
<i>E. coli</i>	ND	ND	Résistance intrinsèque	(Malo et al. 2016)

Tableau 6: Etude de la sensibilité de diverses espèces/genres bactériens au ceftiofur

Genre/espèce bactérienne	% Sensibilité Resapath 2018	% Sensibilité Vetodiag	% Sensibilité littérature	Source
<i>Staphylococcus aureus</i>	NC	ND	60	(Malo et al. 2016)
			88 (<i>Streptococcus spp</i>)	(Miagkoff et al. 2020)
<i>Streptococcus equi subs equi</i>	NC	ND	100 (<i>Streptococcus spp</i>)	(Miagkoff et al. 2020)
			100	(Johns, Adams 2015)
<i>Streptococcus equi subs zooepidemicus</i>	NC	ND	98	(Malo et al. 2016)
			100(<i>Streptococcus spp</i>)	(Miagkoff et al. 2020)
			95,9	(Johns, Adams 2015)
<i>E. coli</i>	89	83	92,4	(Malo et al. 2016)

Tableau 7: Résumé des pathogènes courants du cheval et de leurs sensibilités à la pénicilline G et aux céphalosporines

Bactérie	Infection la plus fréquente	Sensibilité à la pénicilline G	Sensibilité aux céphalosporines	Source
<i>E. coli</i>	Pneumonie et pleuropneumonie	CMI=64µg/mL (dans les urines) CMI=50 µg/mL	CMI ₉₀ ceftofofur=0.5µg/mL CMI ₉₀ céfalotine=16 µg/mL	(Uboh et al. 2000) (Giguère Steeve et al. 2013) (Ensink et al. 1993)
<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	Pneumonie et pleuropneumonie ; kératite	CMI <0.12 µg/mL CMI ₉₀ <0.015 µg/mL	CMI ceftofofur <2 µg/mL CMI ₉₀ céfalotine= 0.06 µg/mL	(Corley, Stephen 2008) (Ensink et al. 1993)
<i>Streptococcus equi subs equi</i>	Gourme	CMI= 0.002-0.008 µg/mL	CMI ceftofofur<0.04 µg/mL	(Stover et al. 1981)
<i>Streptococcus spp</i>	Plaies traumatiques ; Arthrite septique traumatique ; ostéomyélite	CMI pénicilline= 0.06 µg/mL	CMI ceftofofur <0.5µg/mL	(Meyer et al. 2009)
<i>Actinobacillus spp</i>	Pneumonie et pleuropneumonie	CMI = 0.25-2µg/mL	CMI ₉₀ ceftofofur<0.06µg/mL	(Giguère Steeve et al. 2013)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Infections sous cutanées ; kératite	CMI= 32-125ng/mL	CMI ceftofofur= 1µg/ml	(Olsén et al. 2013)
<i>Staphylococcus spp</i>	Plaies chirurgicales ; Arthrite septique traumatique ; ostéomyélite	CMI ₉₀ >16 µg/mL CMI = 4µg/mL (Meyer et al) CMI>0.25 mg/L	CMI ₉₀ céfalotine= 0.25 µg/mL CMI ₉₀ ceftofofur = 1µg/mL	(Ensink et al. 1993) (Meyer et al. 2009)
<i>Clostridium spp</i>	Infections sous cutanées	CMI <0.12 µg/mL	CMI ₉₀ céfalotine=1µg/mL	(Giguère Steeve et al. 2013)
<i>Streptococcus B-haemolytiques</i>	Plaies chirurgicales ; métrite ; Péritonite, abcès abdominaux	CMI<0.25 mg/L	CMI cefazoline <2µg/L CMI ceftofofur <0.5µg/mL	(Giguère Steeve et al. 2013) (Meyer et al. 2009)
<i>Enterobacteriae</i>	Entérocolite	Résistant (<i>Enterobacter spp</i>)	MIC<8 µg/mL	(Corley, Stephen 2008)
<i>Pseudomonas spp</i>	Plaies chirurgicales ; Plaies traumatiques ; Arthrite septique ; ostéomyélite ; métrite, kératite	Résistant	MIC ₉₀ ceftofofur=[4- >8] µg/mL	(Giguère Steeve et al. 2013)
<i>Rhodococcus equi</i>	Péritonite, abcès abdominaux ; Bronchopneumonie purulente sur les jeunes poulains		MIC ceftofofur =1µg/mL	(Giguère Steeve et al. 2013)
<i>Salmonella spp</i>	Entérocolite		MIC ₉₀ ceftofofur =1 MIC ₉₀ céfalotine=8 µg/mL	(Giguère Steeve et al. 2013) (Ensink et al. 1993)
<i>Taylorella equigenitalis</i>	Métrite contagieuse équine	MIC ₉₀ =0.25 µg/mL	MIC ₉₀ céfalotine=2 µg/mL	(Ensink et al. 1993)

Il est important de préciser que les CMI ne proviennent pas forcément de bactéries isolées chez un équidé. En effet, la CMI de la pénicilline G pour *E.coli* donnée par (Giguère Steeve et al. 2013) est issu d'une bactérie humaine. Les autres valeurs de CMI figurant dans le tableau proviennent de pathogènes isolés chez l'animal sans indication d'espèce (Giguère Steeve et al. 2013) ou du cheval (Ensink et al. 1993 ; Meyer et al. 2009 ; Olsén et al. 2013 ; Uboh et al. 2000).

Tableau 8: CMI seuils avec la méthode des disques de bactéries d'intérêt provenant du CLSI 2018 pour les équidés. Le signe / signifie que les données correspondantes sont indisponibles

Région corporelle	Agent antimicrobien	Organisme cible	Concentration du disque	Catégories interprétées et CMI seuils $\mu\text{g/L}$			Commentaires
				Sensible	Intermédiaire	Résistant	
<i>Staphylococcus spp</i>							
Appareil respiratoire, tissus mous	Penicilline G	<i>Staphylococcus spp</i>	/	≤ 0.5	1	≥ 2	Les valeurs critiques ont été déterminées à partir d'examen des données de microbiologie et l'analyse Pk et PD. Le schéma posologique utilisé était : 22 000UI/Kg chaque 24h en IM.
Peau, appareil respiratoire et tissus mous	Enrofloxaxine	<i>S.aureus</i>	/	≤ 0.12	0.25	≥ 0.5	Les valeurs critiques ont été déterminées par une étude de la distribution des CMI ainsi que de l'analyse Pk/Pd après administration d'enrofloxaxine à la dose de 7.5mg/kg/24h PO
<i>Streptococcus spp</i>							
Foals							
	Amikacine	<i>Streptococcus equi</i> subsp <i>zooepidemicus</i> et subsp <i>equi</i>	/	≤ 2	4	≥ 8	Valeurs seuils obtenues provenant de la microbiologie, analyse PK/PD. Poulains de moins de 11 jours. Schéma posologique utilisé : Amikacine à 20mg/kg/24h en IV
Adults							
	Amikacine	<i>Streptococcus equi</i> subsp <i>zooepidemicus</i> et subsp <i>equi</i>	/	≤ 4	8	≥ 16	Valeurs seuils obtenues provenant de la microbiologie, analyse PK/PD. Chevaux adultes. Schéma posologique utilisé : Amikacine à 10mg/kg/24h en IV ou IM
Appareil respiratoire	Ampicilline	<i>Streptococcus equi</i> subsp <i>zooepidemicus</i> et subsp <i>equi</i>	/	≤ 0.25			Pour les souches donnant des résultats suggérés « non sensibles », l'identification des organismes et les résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques doivent être confirmés.
Appareil respiratoire et tissus mous	Pénicilline G	<i>Streptococcus spp</i>	/	≤ 0.5	1	≥ 2	Les valeurs critiques ont été déterminées à partir d'examen des données de microbiologie et l'analyse Pk et PD. Le schéma posologique utilisé était : 22 000UI/Kg chaque 24h en IM.
Appareil respiratoire et génital	Cefazoline	<i>Streptococcus spp</i> β -hémolytique	/	≤ 2	4	8	Les valeurs critiques de la Cefazoline ont été déterminées à partir d'un examen des données de distribution de la CMI et de l'analyse des données PK/PD. Le schéma posologique utilisé était : Cafazoline 25mg/kg administré toutes les 6h en IV
Appareil respiratoire	Ceftiofur	<i>Streptococcus equi</i> subsp <i>zooepidemicus</i>	30 μg	≤ 0.25			Cette valeur critique permettra la distinction de souches présentant une sensibilité réduite par rapport à la population originale.

Dans le tableau 8 ci-dessus, sont présentés les différents seuils de sensibilités et de résistances de bactéries vis-à-vis d'antibiotiques utilisés chez le cheval avec la méthode des disques. Les « breakpoints » ont été réalisés pour des bactéries isolées chez le cheval, donc sont spécifiques d'espèces. Néanmoins, le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2018) d'où provient ces résultats, est une organisation américaine. Le tableau 8 nous donne donc une bonne indication des différentes sensibilités des pathogènes du cheval vis-à-vis des antibiotiques couramment utilisés aux Etats-Unis et il faut garder en tête que les souches européennes peuvent avoir des sensibilités différentes de celles isolées dans d'autres régions du monde.

Le CASFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie 2019) publie également des données de sensibilités de certains pathogènes animaux. Néanmoins, les seuils ne sont pas déterminés avec des souches issues de l'espèce cible mais proviennent en général de souches humaines ou d'autres espèces animales. Les valeurs critiques proposés pour le cheval sont donc extrapolées de celles qui ont été déterminées en humaine ou chez d'autres espèces.

PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE

Le but cette étude est de déterminer les paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de trois formulations commerciales de pénicilline G disponibles et utilisées en routine chez le cheval. En effet, les publications sur les bonnes pratiques d'utilisation des antibiotiques donnent des doses et des fréquences d'administration différentes de l'AMM. Par exemple, la Dépocilline® est recommandée pour une utilisation à 22 000 UI/kg q 12h alors que la dose décrite dans l'AMM est de 10 mg/kg (ie 10 104 UI/kg) q 24h.

Dans notre protocole expérimental, nous avons utilisé les doses figurants dans l'AMM afin de voir si ces schémas posologiques sont adaptés en toutes circonstances ou peuvent nécessiter des adaptations. Les trois formulations commerciales étudiées ici sont : la Dépocilline® et la Duplocilline® qui sont largement utilisées en médecine vétérinaire et notamment comme antibiothérapie de première intention chez le cheval. Le Pénétavet® fait également partie de l'étude, moins fréquemment employé en pratique courante mais qui intéresse les vétérinaires car met en jeu des volumes d'injections moins importants et annonce une bonne pénétration dans le parenchyme pulmonaire.

I) Matériel et méthode

A) Matériel

1) Médicaments utilisés

a) Dépocilline®

i) Généralités

La Dépocilline® est une solution de benzylpénicilline sous forme de procaïne de type suspension injectable.

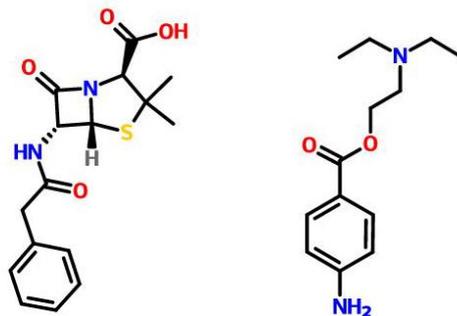


Figure 10: Procaine pénicilline

ii) Description du produit

Composition (pour un mL) de Dépocilline ® :

Benzylpénicilline procaine monohydratée _____ 170,41mg

Formulation : Suspension

Dose : 10mg/kg de poids vif/24h. Bien agiter le flacon pour homogénéiser la suspension avant l'emploi.

Voie d'administration : voie intramusculaire (maximum 20mL par point)

Numéro de lot : FAP128/01

Date de péremption : 07/2021

Conditions de conservation : Conserver à une température comprise entre + 2°C et + 8°C, à l'abri de la lumière. Durée de conservation du médicament après première ouverture du conditionnement primaire : 28 jours en PET, 0 jours en verre.

Fabriquant : Intervet

b) Duplocilline

i) Généralités

Il s'agit de la combinaison de benzylpénicilline procaine et de benzylpénicilline benzathine.

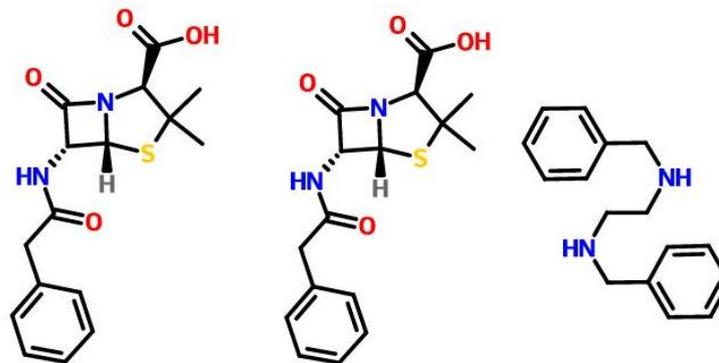


Figure 11: A gauche : molécule de benzylpénicilline ; à droite : benzathine

ii) Description du produit

Composition (pour un mL) de Duplocilline ®

Benzylpénicilline procaine monohydratée _____ 85,20mg

Benzylpénicilline benzathine _____ 91,95mg

Formulation : Suspension

Dose : 12,4mg/kg de poids vif/48h. Agiter le flacon avant emploi.

Voie d'administration : voie intramusculaire

Numéro de lot : FAP124/01

Date de péremption : 06/2021

Conditions de conservation : Conserver à une température comprise entre + 2°C et + 8°C, à l'abri de la lumière. Après ouverture : ne pas conserver.

Fabriquant : Intervet



c) Penetavet

i) Généralités

Le Penetavet a pour principe actif le pénéthamate.

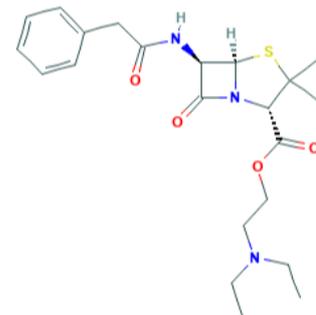


Figure 12: Molécule de pénéthamate

ii) Description du produit

Composition (pour un flacon)

Iodhydrate de pénéthamate _____ 5g

Formulation : Poudre et solvant pour suspension injectable

Dose : 7,72 g de pénéthamate (soit 2x5 g d'iodhydrate de pénéthamate donc 2 flacons) le 1er jour, puis 3,86 g de pénéthamate (soit 5 g d'iodhydrate de pénéthamate donc 1 flacon) les 2ème et 3ème jour du traitement par cheval adulte. Préparation extemporanée de la suspension à l'aide du contenu d'un flacon de solvant (15 ml). Bien agiter avant l'emploi.

Voie d'administration : voie intramusculaire profonde

Numéro de lot : 1800020

Date de péremption : 04/2020

Conditions de conservation : Après reconstitution, ne pas conserver à une température supérieure à 25°C. Après reconstitution : conserver 2 jours.

Fabriquant : Merial

2) Préparation du matériel test

Pour chaque antibiotique, les suspensions ont été administrées en intramusculaire stricte dans le muscle fessier moyen, après vérification de l'absence de sang avant injection. Le côté a été consigné et l'injection a été réalisée en utilisant des aiguilles roses (20G).

Le muscle glutéal a été choisis comme site préférentiel d'injection pour notre étude car plus sécuritaire que les muscles semi-tendineux et semi-membraneux au moment de l'injection et présentant moins de structures sensibles qu'au niveau de l'encolure.

La masse musculaire glutéale est également plus importante que celle du muscle trapèze, et celui-ci peut poser des problèmes pour pouvoir monter les chevaux après injection. Même si l'encolure est un lieu d'administration intramusculaire largement utilisé en pratique terrain, la faible quantité de muscle, la grande quantité de fascia et la présence de structures importantes telles que les cervicales ne favorisent pas cette localisation. On observe également de manière fréquente des réactions inflammatoires voire des abcès post injection qui sont difficiles à gérer dans cette zone.

Les suspensions à administrer pour chaque cheval ont été préparées le matin même juste avant chaque administration. Les chevaux ont été pesés dans la semaine précédant chaque phase expérimentale. Les volumes des suspensions à administrer ont été ajustés au dernier poids relevé.

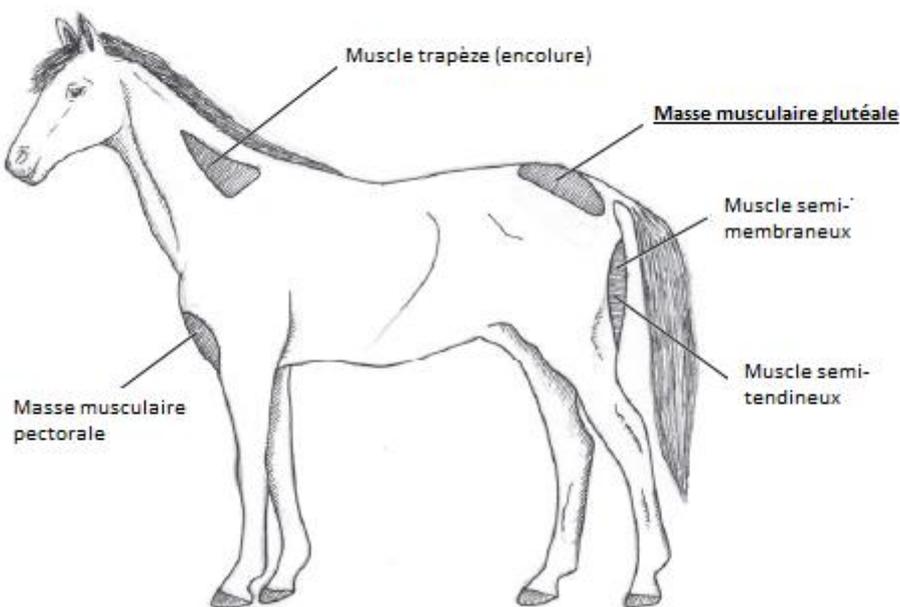


Figure 13: Sites d'injection en intramusculaire utilisés couramment chez le cheval. En gras et souligné, la masse musculaire glutéale qui est le site d'administration choisis dans notre étude.

3) Chevaux inclus dans l'étude

Six chevaux en bonne santé âgés de 4 à 15 ans ont été inclus dans cette étude. Ils appartiennent à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Tableau 9: Tableau récapitulatif des chevaux utilisés pour l'étude

Nom du cheval	Usky	Emma de Fontbrune	Leridano	Doris de l'Atome	Uzès	Déesse du Dropt
Numéro du cheval dans l'étude	1	2	3	4	5	6
Genre	Mâle castré	Femelle	Mâle castré	Femelle	Mâle castré	Femelle
Race	ONC	Trotteur Français	Pur-Sang Espagnol	Trotteur français	OC	Trotteur Français
Poids (kg)	500	450	450	570	540	550
Age (an)	12	6	12	7	12	7

a) Condition de vie et d'utilisation des animaux durant l'étude

Les chevaux sont hébergés en groupe au sein des paddocks de l'ENVT. Ils sont nourris avec des granulés une fois par jour et ont un libre accès à l'eau et au foin.

Un examen clinique complet a été effectué dans la semaine précédant chaque phase expérimentale puis à J1, J2, J3, J4, J6, J15, J21 et J30 pendant l'expérimentation.

Les examens cliniques initiaux, la pesée des chevaux et les premiers prélèvements de crottins ont été effectués à J-6 ou J-5 et J-4 ou J-3 selon les phases.

Les 6 chevaux ont été mis en box pendant une journée lors de la semaine précédant le début de la phase expérimentale afin de les accoutumer. Les hongres du centre équestre ainsi que les juments du troupeau pédagogique vivent habituellement au pré durant toute l'année.



Figure 14: Photographie réalisée lors de la troisième phase expérimentale en janvier 2020. Les chevaux 1 à 6 sont respectivement dans les boxes de gauche à droite dans cet ordre. Source : Laura Chapuis

b) Antécédents de traitements/ expérimentation

Les commémoratifs concernant d'éventuelles participations à des études pharmacologiques ou administrations de traitements antibiotiques des différents chevaux ont été relevés.

Les juments Déesse du Dropt, Doris de l'Atome et Emma de Fontbrune n'ont reçu aucun traitement antibiotique de 2017 jusqu'au début de l'étude, le 08/04/2019.

En ce qui concerne les hongres, seul Lérivano (cheval n°3) a reçu un traitement antibiotique par voie générale le 1^{er} octobre 2018 dans le cadre d'une étude expérimentale. La substance concernée est le Borgal® à la dose de 2,7mg/kg de triméthoprimine et de 13,4 mg/kg de sulfadoxine en une administration unique par voie intraveineuse.

Durant les périodes expérimentales, il est à noter que la jument Déesse (cheval n°6) a reçu 0,01mg/kg de détomidine et 0,01mg/kg de butorphanol dans le cadre d'un sondage nasogastrique à cause d'un bouchon œsophagien 2 jours avant le début de la première phase expérimentale.

Les juments du troupeau pédagogique de l'école ont été retrouvées le 18 septembre 2019 (ie pendant la seconde phase expérimentale) enduites d'une substance huileuse non identifiée sur la ligne dorsale.

Usky (cheval n°1) s'est retrouvé pendant la deuxième phase expérimentale dans un box où un cheval avait reçu lors des semaines précédentes de l'Avemix® (triméthoprimine et sulfaméthoxy-pyridazine) et de la Finadyne® (flunixin méglumine). Il est important de préciser que le box a été nettoyé et la litière changée entre les deux chevaux.

B) Plan expérimental

1) Détails des phases

L'étude s'est déroulée selon 4 phases :

- La première du 08 au 13/04/2019
- La seconde du 16 au 22/09/2019
- La troisième du 16 au 25/01/2020
- La quatrième phase le 26 et 27/10/20 pour les mâles et le 30 et 31/10/2020 pour les juments.

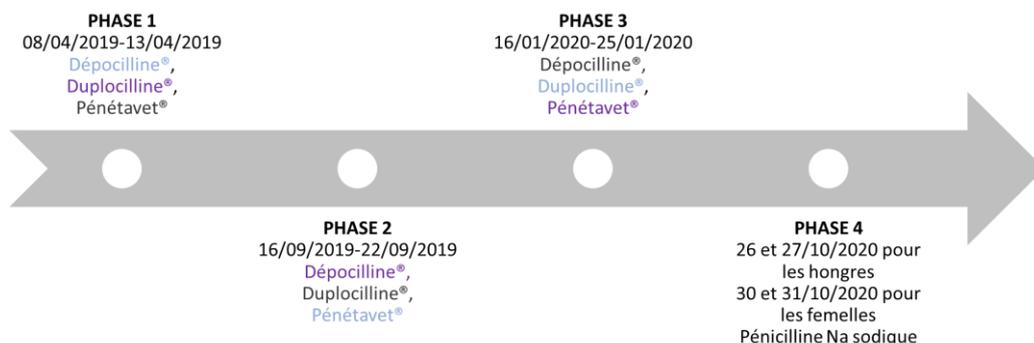


Figure 15: Frise chronologique des phases expérimentales. Les couleurs correspondent aux groupes de chevaux qui ont reçu le traitement dans une phase donnée. Cheval 1 et cheval 2 ; cheval 3 et cheval 4 ; cheval 5 et cheval 6

2) Modalités d'administration

Les six chevaux présentés précédemment ont été utilisés pour cette étude. Ils ont été séparés en 3 lots de 2 chevaux, 1 hongre et 1 femelle par lot.

Les administrations et les prélèvements sanguins ont été effectués sur chacun des 3 lots simultanément. Pour chaque semaine de traitement, les administrations ont démarré un lundi noté J1.

Les antibiotiques ont été administrés selon les doses suivantes :

- Dépocilline® : administration IM à la dose de 10mg/kg à J1, J2 et J3
- Duplocilline ® : administration IM à la dose de 12,4mg /kg à J1 et J3
- Pénétavet® : administration IM de 2 flacons à J1, 1 flacon à J2 et 1 flacon à J3
- Pénicilline G sodique Panpharma ® : administration par IV lente d'une dose unique à 22 000 UI/kg.

Aucune administration n'a été effectuée après le J3.

Un unique prélèvement sanguin par cheval a été réalisé le matin des J4, J5 et J6.

Les administrations intramusculaires ont été réalisées dans le muscle glutéal alternativement du côté droit et gauche pour chaque cheval.

➤ Tableau récapitulatif des produits administrés, de la dose et de la voie

Tableau 10: Tableau récapitulatif des doses administrées en mg/kg et converties en UI/kg et de la voie d'administration

Nom	Produit administré	Voie	Dose	Dose équivalente en benzylpénicilline (UI/kg)	Fréquence	Nombre d'administration
Dépo	Dépocilline	IM	10mg/kg	10104	24h	3
Dupl	Duplocilline	IM	12,4mg/kg	10237	48h	2
Péné	Pénétavet	IM	7,72 puis 3,86g/Cv	21191	24h	3

3) Collecte des échantillons

a) Prélèvement sanguin

Un prélèvement sanguin a été réalisé pour chaque animal :

- avant la 1^{ère} administration (T0),
- 0.25h, 0.5h, 0.75h, 1h, 2h, 3h, 4h, 6h, 8h, 12h et 23h30 après la 1^{ère} administration à J1,

- 0.5h, 1h, 2h, 12 h et 23h30 à J2 et J3,
- puis à J4, J5 et J6 autour de l'heure de première administration.

Les temps de prélèvement sont exprimés en heure.

Les tableaux de prélèvements détaillés pour chaque phase sont présentés en annexe (cf annexe 2,4 et 6).

Après avoir étudié les résultats de la première phase et avant de commencer la seconde, un prélèvement a été ajouté à J4 à 12h pour les animaux recevant le Penetavet®. En effet, après étude de la courbe, il était nécessaire de rajouter un point pour préciser la pente de la courbe des concentrations plasmatiques en pénicilline G pour ce médicament.

A chaque temps de prélèvement, 5 mL de sang ont été prélevés d'une des veines jugulaires à l'aide d'une aiguille noire (Système de prélèvement Vacutainer, G22, 0,7x25mm) et d'un tube sous vide hépariné. Les tubes ont été stockés dans un réfrigérateur jusqu'à la centrifugation des échantillons. Ils ont été centrifugés à 3000 tours par minutes pendant 10 min à +4°C dans l'heure et le plasma collecté conservé à -80°C sous la forme de 2 aliquots de 200 µL et d'un aliquot contenant le reste du plasma.

Aux temps 0, 1, 6, 12 et 23h30 de J1, 2 aliquots de 200µL ont été réalisés en plus pour le dosage des CK. Les CK ont été dosées afin d'évaluer la lyse musculaire provoquée par les injections intramusculaires. En effet, les CK sont des protéines indicatrices majeures de l'augmentation de perméabilité de la membrane musculaire. Leur présence dans le plasma est considérée comme un reflet de lésion musculaire. Pour les chevaux, les valeurs contrôles sont de 200 UI/L de CK. Une augmentation de la concentration plasmatique en CK à l'état d'équilibre d'environ 50U/L en 24h peut être imputé avec certitude à une destruction musculaire de seulement 3g si la biodisponibilité systémique des CK libérées est à la fois rapide et totale (Toutain et al 1995).

Les plannings détaillés des injections et prélèvements sont disponibles en annexe.

b) Prélèvements d'urines

Un prélèvement d'urines était prévu après la première administration au cours de la journée.

L'objectif était de déterminer la fraction d'excrétion dans les urines des molécules étudiées.

De ce fait, les juments devaient être sondées une première fois pour vider la vessie et un second sondage devait être réalisé un certain temps après le premier pour pouvoir être analysé. Il est cependant difficile de connaître le volume résiduel d'urines dans la vessie après sondage et la mise en place des différents prélèvements pour chaque femelle s'avérait être compliqué, dangereux et chronophage. Il était de plus impossible de s'assurer que les juments n'urinent pas dans l'intervalle de temps entre les 2 sondages.

L'urine des hongres devait être récupérée après miction spontanée. Dans ce cas, il est également compliqué de connaître le volume résiduel dans la vessie et le volume obtenu est supérieur à celui après sondage. De plus, il aurait fallu faire un suivi rapproché des hongres pour déterminer l'heure, de façon la plus précise possible à laquelle ils avaient uriné.

Face à ces constatations, il a été décidé lors du premier jour de la première phase de ne pas récolter les urines.

4) Recueil des informations durant les phases d'expérimentation

Pendant l'étude, les chevaux ont été observés quotidiennement par les membres de l'équipe et toutes les anomalies et traitements reçus ont été relevés.

Chaque cheval a fait l'objet d'un examen clinique complet avant son inclusion dans l'étude, la semaine précédant chaque phase clinique. Puis, matin et soir à J1, J2, J3 et enfin quotidiennement à J4, J5, J6, J15, J21 et J30 pour chaque phase clinique.

Une observation détaillée a été réalisée dans l'heure suivant l'administration et une attention particulière a été accordée à des signes de colique, d'hypertonie musculaire, de flehmen, de nervosité, de stéréotypie, d'agitation ou de dépression.

Les sites d'injections ont été surveillés : la tolérance locale (gonflement et induration) a été évaluée avant traitement, à 6 et 12h post traitement puis quotidiennement jusqu'à J6.

Score de gonflement

Score	Observation
0	Aucun gonflement
1	Gonflement discret (≤ 5 cm diamètre)
2	Gonflement modéré (> 5 cm, ≤ 10 cm diamètre)
3	Gonflement sévère (> 10 cm diamètre)

Figure 16: Grille utilisée pour déterminer un score de gonflement au site d'injection.

Induration (diamètre) avec un pied à coulisse

Score	Observation
0	Pas d'induration
1	Induration discrète (≤ 2 cm de diamètre)
2	Induration modérée (> 2 cm, ≤ 8 cm diamètre)
3	Induration sévère (> 8 cm diamètre)

Figure 17: Grille utilisée pour déterminer un score d'induration au site d'injection.

La douleur a été également évaluée à l'aide d'une grille scoring de douleur ; avant injection à 6h, 12h post injection et tous les jours jusqu'à J6.

Cette grille a été réalisée à partir de recherche bibliographique sur l'évaluation et les manifestations de douleurs chez les chevaux et est disponible en annexe (cf annexe 1). (de Grauw, van Loon 2016 ; van Loon, Van Dierendonck 2018 ; Guedes 2017 ; Wagner 2010 ; Glerup et al. 2015 ; Reid et al. 2017).

C) Analyse des échantillons

1) Dosage de la pénicilline G dans le plasma

Les dosages de pénicilline ont été réalisés à posteriori par couplage chromatographie liquide et spectrométrie de masse.

Une séquence comprend une gamme étalon avec au minimum 5 points de calibration qui a été préparée avant chaque séquence de dosage et 2 séries de 3 contrôles qualités (QC) recouvrant la gamme : la première série est placée après la gamme pour valider la courbe de calibration et la seconde en fin de séquence pour valider les analyses.

Un volume de 100 μL est nécessaire par échantillon.

a) Réalisation des solutions filles de pénicilline G

Des solutions de pénicilline G (PeniG) ont été préparées pour réaliser la gamme étalon. Ces solutions filles ont été réalisées à partir d'une solution mère de pénicilline à la concentration 10 000 UI/mL. Chaque solution fille a été préparée de la façon suivante :

- Solution PeniG à 100 $\mu\text{g/mL}$: 1mL de chaque solution mère quantité suffisante pour (qsp) 10 mL d'H₂O ultrapure.
- Solution PeniG à 10 $\mu\text{g/mL}$: 1mL de chaque solution PeniG à 100 μmL qsp 10 mL d'H₂O ultrapure.
- Solution PeniG à 1 $\mu\text{g/mL}$: 1mL de chaque solution PeniG à 10 μmL qsp 10 mL d'H₂O ultra pure.

b) Réalisation de la gamme étalon et des points de contrôle de qualité

Les points de calibration et les QC ont été préparés par dilution des différentes solutions de PeniG dans du plasma afin d'obtenir les concentrations suivantes : 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10 $\mu\text{g/mL}$ pour les points de calibration et 0.03 ; 1.5 et 7.5 $\mu\text{g/mL}$ pour le QC bas, intermédiaire et haut.

Du plasma de cheval « neutre » sans résidus de pénicilline a été utilisé pour réaliser la gamme étalon et les QC.

c) Préparation du standard interne

A chaque fois qu'un échantillon est manipulé ou transféré il peut y avoir des pertes. L'utilisation d'un étalon interne permet d'utiliser le ratio des surfaces des pics plutôt que la hauteur des pics seule qui peut varier selon si des pertes ont eu lieu ou non.

Il est introduit dans chaque point de la gamme étalon, point de contrôle ainsi que dans tous les échantillons à doser. Le standard interne est ajouté à la même concentration dans chaque élément à doser.

Une solution mère d'ampicilline (AMPI) à 1 mg/mL a été préparée en dissolvant 10.6 mg d'Ampicilline sodium salt dans 10 mL d'H₂O ultrapure. Une solution d'AMPI à 10 µg/mL a été préparée en diluant 100 µL de la solution mère pour un volume final de 10 mL d'H₂O ultrapure.

d) Extraction des échantillons

L'extraction des échantillons a été réalisée pour s'affranchir des protéines qui pourraient affecter l'analyse spectrophotométrique et chromatographique.

Une solution de méthanol (MeOH) acidifié à 1% a été préparée en diluant 1 mL d'acide formique dans 99 mL de MeOH de qualité LC/MS.

Les conditions d'extraction ont été les suivantes :

- 100 µL échantillon
- 10 µL de la solution de standard interne
- 150 µL de méthanol acidifié (1% acide formique)
- Vortex 1400 rotation par minute à 10°C pendant 2 minutes
- Centrifugation 20000g, 10 min, 4°C
- Prélèvement de 100 µL de surnageant qui sera analysé
- Injection surnageant (10 µL) par la machine

Les échantillons ont été traités 30 par 30. Cette limitation est due au nombre de place disponible dans la centrifugeuse pour les échantillons.

e) Critères d'acceptabilité des résultats ou de conformité

Les critères d'acceptabilité de la courbe de calibration sont basés sur le calcul du pourcentage des résidus de la concentration relative (RCR%) selon l'équation ci-dessous :

$$RCR\% = \frac{(RC - NC) \times 100}{NC}$$

Avec :

RC : Concentration calculée à partir des paramètres de la courbe de calibration

NC : Concentration nominale

¼ des points de gamme peuvent être rejetés si le RCR est supérieur à ±20% (sauf pour la limite de quantification (LOQ) qui peut être inférieure à ± 25%).

La série de dosages est validée à partir des QC si au moins 4 des 6 QC injectés ont un RCR de ±20% par rapport à la concentration nominale. Ce qui signifie que 2 QC sur 6 peuvent être rejetés si ce ne sont pas des points de QC de même concentration.

2) Analyse non compartimentale

L'analyse non-compartimentale a été réalisée à l'aide du logiciel Phoenix 64 par Béatrice Roques du laboratoire de pharmacologie-toxicologie de l'ENVT.

Les données ont été importées dans le logiciel. Dans un premier temps, des courbes pour chaque cheval et chaque substance ont été tracées. Cette première visualisation des courbes sans manipulations particulières a permis d'ajuster le traitement des données effectué par la suite.

Aucune donnée n'a été exclue pour cette analyse.

3) Dosage des CK dans le plasma

Les CK ont été dosées par analyse biochimique au laboratoire central de l'ENVT.

La voie intramusculaire est largement utilisée pour l'administration parentérale de substances médicamenteuses en médecine vétérinaire. Les avantages de cette technique sont d'un point de vue pratique, sa facilité de réalisation contrairement à un abord intraveineux et permet une biodisponibilité du médicament proche de 100%. Néanmoins, les injections intramusculaires sont souvent douloureuses et induisent régulièrement des réactions locales au site d'injection.

Dans le cadre de notre étude, il nous semblait pertinent d'évaluer la tolérance aux injections de ces trois médicaments afin de les comparer et d'avoir une approche des conséquences d'injections répétées.

Il existe des méthodes morphologiques, biochimiques et physiques d'évaluation de tolérance locale à une injection intramusculaire (Ferré et al 2004).

Une approche anatomo-pathologique permet d'évaluer précisément les dommages musculaires après une injection intramusculaire. Cette méthode est néanmoins trop invasive pour être utilisée dans notre étude.

Une méthode d'imagerie qui tend à être de plus en plus utilisée est l'échographie du site d'injection. Cette technique d'imagerie permet une visualisation directe de la lésion à un moment donné mais également de suivre sur un même animal l'évolution au cours du temps (CABANIE 1994).

Des signes cliniques tels que des boiteries, des abcès de l'hyperthermie ou de l'anorexie sont décrits après des injections de médicaments par voie intra-musculaire. L'évaluation des lésions musculaires post-injection se fait le plus souvent par une approche morphologique de la zone d'injection et donc est essentiellement qualitative.

Nous avons utilisé cette approche dans l'étude avec des scores de douleur et de tolérance aux sites d'injections.

Néanmoins, une approche plus quantitative est intéressante à objectiver. L'activité plasmatique des Créatines Kinases est un marqueur sensible et spécifique de la souffrance musculaire (Lefebvre et al.). Les dommages aux cellules musculaires augmentent la perméabilité membranaire ce qui permet à une partie ou la totalité du contenu intracellulaire de fuir dans les

espaces extracellulaires. Le contenu libéré pénètre ensuite dans le plasma par drainage lymphatique. Il est admis qu'il existe une relation entre la quantité de contenu de cellule libérée, et les concentrations plasmatiques résultantes (activités) de certains analytes, avec l'étendue des dommages aux organes. La Créatine Kinase est l'enzyme utilisée pour quantifier les dommages musculaires.

Différentes méthodes biochimiques d'analyses enzymatiques sont également décrites :

- Mesure de la quantité de muscle ayant perdu toute activité CK → Invasive
- Mesure de l'activité CK sérique
- Autres mesures enzymatiques

La technique employée dans notre étude est la mesure de l'activité des CK sériques. Pour cela, des échantillons sanguins ont été conservés par -80°C pour doser les CK plasmatiques. Les prélèvements à T0, T=1h, T=6h, T=12h et T=23,5 post injection ont fait l'objet d'un dosage plasmatique des CK en plus du dosage de pénicilline.

Une analyse des CK a également été réalisée pour l'injection de pénicilline sodique (Péni Na) par voie intraveineuse.

Le but du dosage des CK plasmatiques est d'objectiver la lyse musculaire après injection musculaire des différentes formulations commerciales de pénicilline de notre étude.

➤ Traitement des données

Lors d'utilisation de l'analyse des CK pour évaluer les dommages musculaires induits par l'administration intra musculaire, plusieurs approches sont décrites :

- Comparaison des valeurs de CK à une valeur basale de référence à un moment défini.
- Détermination du pic de libération des CK lors de prélèvements en série.
- Intégration d'une série de valeurs de concentrations d'activité en CK sérique sous forme aire sous la courbe (AUC) en fonction du temps.

Les trois approches ci-dessus permettent toutes, chez le même animal, de comparer plusieurs formulations, mais ne donnent pas une évaluation quantitative de la masse de muscle atteint par l'administration intramusculaire.

Une approche plus précise, permise par l'analyse pharmacocinétique de la concentration d'activité CK plasmatique a été proposée. Trois paramètres doivent être déterminés pour mesurer la quantité totale de CK libérées par le muscle lésé : la clairance des CK plasmatiques, la biodisponibilité, et l'aire sous la courbe de l'activité plasmatique des CK au cours du temps. (Lefebvre H. P. et al.,1996).

Les aires sous la courbe des CK après administrations IM ou IV des différentes substances ont été obtenues par utilisation de la méthode des trapèzes.

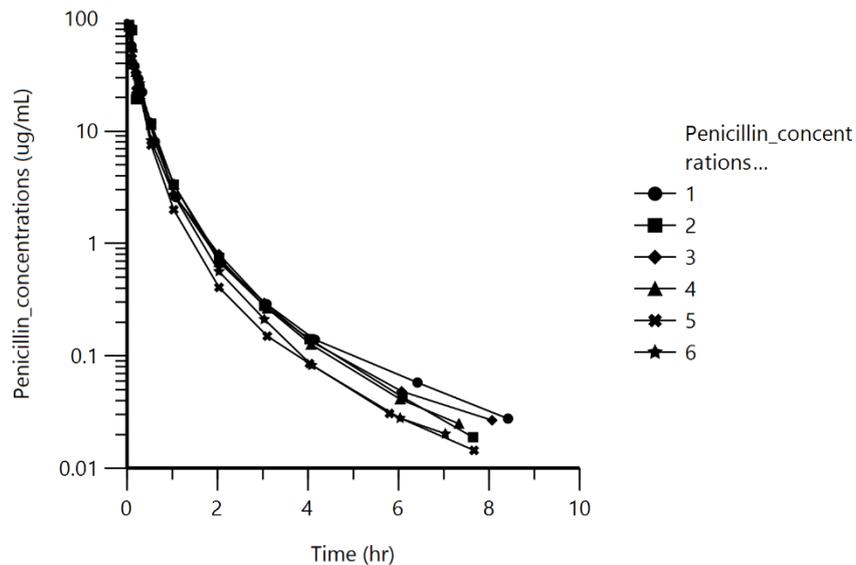
II) Résultats de l'étude expérimentale

A) Analyse non compartimentale des données

1) Injection intraveineuse de Pénicilline G sodique

a) Données brutes

La courbe des concentrations plasmatiques en pénicilline G des 6 chevaux en fonction du temps est représentée dans la figure ci-dessous :



b) Analyse non compartimentale

Une analyse non compartimentale a été réalisée pour une administration intraveineuse avec perfusion (dans le cas d'une IV lente) et sans pondération. La méthode de calcul utilisée était « linear Up Log Down ».

Tableau 11: Principaux paramètres PK de la pénicilline G sodique déterminés par analyse non-compartmentale

Paramètres	Unités	Données					
		Cheval 1	Cheval 2	Cheval 3	Cheval 4	Cheval 5	Cheval 6
Nombre d'échantillons		11	11	11	11	11	11
Dose_equivalente en_Benzylpénicilline	mg	12,31	12,10	12,63	12,18	12,31	12,18
Nombres de points		4	4	4	4	4	4
T1/2	hr	1,62	1,19	1,47	1,24	1,35	1,19
Tmax	hr	0,10	0,05	0,07	0,05	0,05	0,05
Cmax	ug/mL	57,19	87,54	86,87	85,11	74,27	85,86
AUCall	hr*ug/mL	19,48	23,29	22,12	22,89	17,21	19,86
AUCINF_obs	hr*ug/mL	19,55	23,32	22,18	22,93	17,24	19,90
AUC_%Extrap_obs	%	0,33	0,14	0,26	0,20	0,16	0,18
Vz_obs	mL/kg	1476,00	894,45	1208,89	953,56	1385,78	1053,60
Cl_obs	mL/hr/kg	629,72	518,91	569,39	531,08	714,05	612,12
Vz_pred	mL/kg	1476,29	894,50	1209,32	953,74	1385,95	1053,84
Cl_pred	mL/hr/kg	629,84	518,94	569,59	531,18	714,14	612,26
Vss_obs	mL/kg	357,66	233,32	291,95	253,94	297,83	269,30
Vss_pred	mL/kg	356,47	233,09	290,12	253,12	297,06	268,21

T1/2 : temps de demi-vie, Tmax : temps pour lequel Cmax est observé, AUC : Aire sous la courbe totale (all) infinie (INF), Vz : Volume de distribution apparent prédit (Pred) ou observé (Obs), Cl : clairance prédite (Pred) ou observée (Obs), VSS : Volume de distribution à l'équilibre prédit (Pred) ou observé (Obs).

Remarque : Le pourcentage d'extrapolation nécessaire à la détermination de AUC_{INF} est très faible dans ce cas (0,21% en moyenne). Ceci traduit le fait qu'il n'y quasiment pas d'extrapolation pour avoir AUC_{INF} et que nous pouvons nous servir de cette valeur. On considère que lorsque le taux d'extrapolation est inférieur à 10% les valeurs de AUC_{INF} sont exploitables. Dans le cas échéant, la AUC_{all} est utilisée.

Afin d'avoir une vue d'ensemble, les moyennes des 6 chevaux pour les principaux paramètres sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 12: Tableau de synthèse des moyennes des principaux paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de la pénicilline G sodique

Paramètre	Unité	Moyenne	Ecart type
T1/2	hr	1,34	0,17
Cmax	ug/mL	79,47	11,97
AUCall	hr*ug/mL	20,81	2,36
AUCINF_obs	hr*ug/mL	20,85	2,36
AUC_%Extrap_obs	%	0,21	0,07
Vz_obs	mL/kg	1162,05	235,65
Cl_obs	mL/hr/kg	595,88	72,38
Vss_obs	mL/kg	284,00	43,29

T1/2 : temps de demi-vie, Cmax : concentration maximale, Tmax : temps pour lequel Cmax est observé, AUC : Air sous la courbe totale (all) ou infinie (INF), AUC%extra_obs : extrapolation nécessaire à l'obtention d'AUC_{INF}, Vz : Volume de distribution apparent, Cl_obs : clairance observée, VSS : Volume de distribution à l'équilibre observé (Obs)

Le Tmax est le temps correspondant au pic de concentration (Cmax). Lors d'une intraveineuse, il est obtenu au cours de l'injection du produit. Dans le cas d'une IV lente, la valeur potentielle de la Cmax peut ne peut pas être atteinte car l'élimination commence avant même la fin de l'administration de la substance. On constate ici une importante variabilité de la Cmax qui est en moyenne de 79,47 +/-11,97 µg/mL.

Le volume de distribution observé à l'équilibre est de 0,28 L/kg qui est équivalent à ce que l'on peut lire dans la littérature (Firth et al. 1986). La clairance plasmatique observée est de 595,88 mL/kg/heure soit 9,9 mL/kg/min ce qui est comparable aux valeurs mentionnées dans la littérature (8,5mL/kg/min (Firth et al. 1986)).

2) Injection intramusculaire de Dépocilline ®

a) Données Brutes

Les concentrations plasmatiques en pénicilline G après les différentes administrations de Dépocilline® en fonction du temps sont reportées dans la figure ci-dessous :

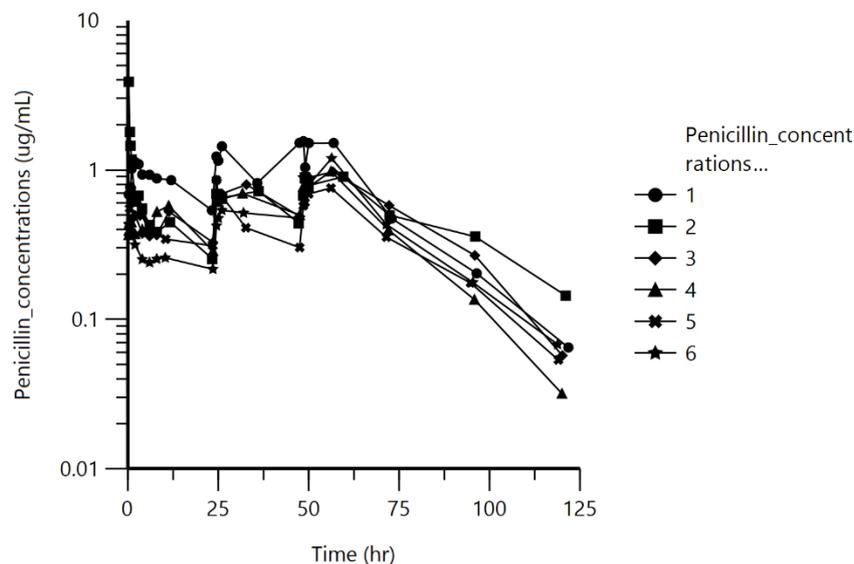


Figure 19: Concentration plasmatique en pénicilline G en fonction du temps après administration répétée de Dépocilline® à 10mg/kg q24h pendant 3 jours.

A partir des données brutes des concentrations plasmatiques de pénicilline G en fonction du temps, nous avons pu déterminer certains paramètres pharmacocinétiques

La Cmax et le Tmax ont été déterminés à partir des prélèvements compris entre T₀ et T_{23,5h} ie post première injection. En effet, les prélèvements ont été réalisés de manière plus rapprochée que pour les secondes et/ou troisièmes injections. Nous considérons donc que nos Cmax et Tmax sont plus précis et significatifs pour la première injection.

Le tableau ci-dessous résume les Cmax et Tmax de chacun des chevaux après la première injection de Dépocilline®.

Tableau 13: Cmax et Tmax obtenus chez les 6 chevaux avec la Dépocilline® après la première administration

Numéro du cheval	1	2	3	4	5	6	Moyenne pour les 6 chevaux	Ecart type
Cmax (µg/ml)	1,13	1,75	0,53	0,58	0,74	0,43	0,86	0,50
Tmax (heure)	2,02	0,50	11,40	11,30	1,00	0,25	4,40	5,41

En ce qui concerne la Dépocilline®, un Tmax moyen de 4,4h est observé mais avec une variabilité importante des valeurs entre les individus.

b) Analyse non compartimentale

Une analyse non compartimentale a été menée dans un premier temps. La méthode de calcul utilisé était « Linear Up Log Down ». Les résultats sont reportés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 14: Principaux paramètres PK de la Dépocilline® déterminés par analyse non-compartimentale

Paramètres	Unité	Données					
		Cheval 1	Cheval 2	Cheval 3	Cheval 4	Cheval 5	Cheval 6
Nombres échantillons		7	7	7	7	7	7
Dose_equivalente en_Benzylpénicilline	mg	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Nombre de points		4	4	4	4	4	4
T1/2	hr	14,86	25,04	15,84	13,15	17,00	15,61
Tmax _{tot} (Temps post dernière injection)	hr	48,55 (0,55)	59,48 (11,48)	56,75 (8,75)	56,17 (8,17)	56,17 (8,17)	56,35 (8,35)
Cmax _{tot}	ug/mL	1,56	0,90	0,97	0,98	0,76	1,20
AUC _{all}	hr*ug/mL	37,63	34,04	32,20	24,48	22,11	28,72
AUC _{INF_obs}	hr*ug/mL	39,02	39,25	33,51	25,09	23,42	30,25
AUC_%Extrap_obs	%	3,57	13,27	3,91	2,41	5,61	5,07
Vz_F_obs	mL/kg	5493,23	9206,14	6819,36	7564,41	10469,44	7445,58
Cl_F_obs	mL/hr/kg	256,28	254,80	298,38	398,59	426,94	330,60
Vz_F_pred	mL/kg	5503,23	9133,17	6764,35	7553,71	10434,12	7468,33
Cl_F_pred	mL/hr/kg	256,74	252,78	295,97	398,03	425,50	331,61

T1/2 : temps de demi-vie, Tmax : temps pour lequel Cmax est observé, AUC: Aire sous la courbe totale (all) infinie (INF), Vz: Volume de distribution apparent prédit (Pred) ou observé (Obs), Cl : clairance prédite (Pred) ou observée (Obs),

Le logiciel Phoenix nous donne les résultats pharmacocinétiques ci-dessus pour toute la durée de l'expérience. Néanmoins, comme mentionné plus haut, le Tmax et Cmax seront pris après la première injection (tableau 13).

Afin d'avoir une vue d'ensemble, les moyennes des 6 chevaux pour les principaux paramètres sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 15: Valeurs moyennes des paramètres pharmacocinétiques de la Dépocilline® pour les 6 chevaux de l'étude.

Paramètres	Unité	Valeurs moyennes des 6 chevaux	Ecart type
T1/2	heure	16,92	4,61
Tmax _{tot}	heure	55,58	4,08
Cmax _{tot}	µg/L	1,06	0,31
AUC _{all}	h* µg/L	29,86	6,56
AUC _{INF_obs}	h* µg/L	31,76	7,51
AUC_%Extrap_obs	h* µg/L	5,64	4,35
Vz_F_obs	ml/kg	7833,03	1960,89
Cl_F_obs	ml/h/kg	327,60	80,85
Vz_F_pred	ml/kg	7809,48	1942,56
Cl_F_pred	ml/h/kg	326,77	80,85

T1/2 : temps de demi-vie, Cmax_{TOT} : concentration maximale pour l'ensemble de la phase, Tmax_{tot}: temps pour lequel Cmax est observé pour l'ensemble de la phase, AUC: Aire sous la courbe totale (all) ou infinie (INF), AUC%extra_obs: extrapolation nécessaire à l'obtention d'AUC_{INF}; Vz : Volume de distribution apparent, Cl_obs : clairance observée, VSS : Volume de distribution à l'équilibre observé (Obs)

Le pourcentage d'extrapolation pour l'obtention de AUC_{INF} est <10% donc considéré comme interprétable. Les Tmax et Cmax que nous utiliserons par la suite sont ceux obtenus après la première injection (tableau 13). Néanmoins, nous pouvons commenter leurs valeurs du tableau ci-dessus. Elles correspondent aux Cmax et Tmax sur l'ensemble de la phase expérimentale. Nous voyons dans le tableau 15 que la concentration maximale sur les 3 jours d'expérimentation est obtenue à 55,58 heures soit environ 8h après la seconde injection. Ceci peut faire part d'un phénomène d'accumulation de la pénicilline G plasmatique. Nous remarquons également que la concentration plasmatique en pénicilline G n'augmente pas d'avantage après la troisième injection à 72h.

➤ Temps de demi-vie d'élimination

Le temps de demi-vie de la Dépocilline® pour une dose de 10104UI/kg est d'environ 17h.

En pratique courante, les vétérinaires équins utilisent souvent de la pénicilline toutes les 12h à la dose de 22 000UI/kg alors que dans le dossier d'AMM mentionne une administration par jour (q24h) pour des doses de 7073 à 17177 UI/kg.

3) Injection intramusculaire de Duplocilline®

a) Données brutes

Les concentrations plasmatiques en pénicilline G en fonction du temps des 6 chevaux sont reportées dans la figure ci-dessous :

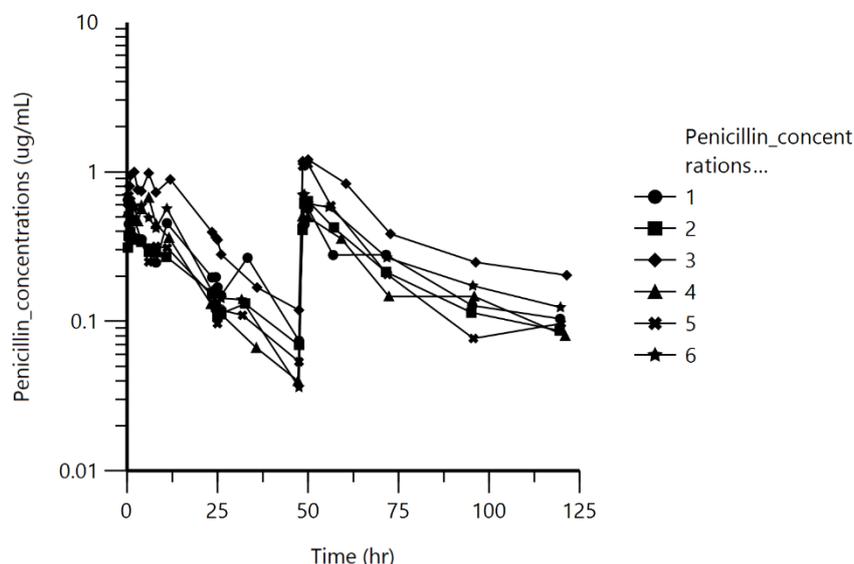


Figure 20: Concentrations plasmatiques en pénicilline G en fonction du temps après 2 administrations de Duplocilline® à la dose de 12.4mg/kg q 48h. Les numéros correspondent aux identifiants des chevaux de l'étude.

La C_{max} et le T_{max} ont été déterminés à partir des prélèvements compris entre T₀ et T_{48h} ie post première injection.

Le tableau ci-dessous regroupe les différents C_{max} et T_{max} après la première injection de Duplocilline® pour les 6 chevaux de l'étude.

Tableau 16: Analyse C_{max} et T_{max} Duplocilline® après la première administration soit dans l'intervalle 0-48h.

Numéro du cheval	1	2	3	4	5	6	Moyenne pour les 6 chevaux	Ecart type
C _{max} (µg/ml)	0,65	0,39	1,00	0,67	0,69	0,69	0,68	0,19
T _{max} (heure)	0,23	1,02	2,02	6,01	0,52	0,23	1,67	2,23

La concentration maximale en pénicilline après injection de Duplocilline® est atteinte rapidement. 66% des chevaux ont eu une C_{max} atteinte en moins de 1 heure. On remarque une fois de plus une variabilité interindividuelle non négligeable.

b) Analyse non compartimentale

L'analyse non compartimentale a été menée selon le même modèle que pour la Dépocilline®. Les résultats sont reportés dans le tableau ci-après.

Tableau 17: Principaux paramètres PK de la Duplocilline[®] déterminés par analyse non-compartmentale

Paramètres	Unité	Données					
		Cheval 1	Cheval 2	Cheval 3	Cheval 4	Cheval 5	Cheval 6
Nombres échantillons		7	7	7	7	7	7
Dose équivalente en Benzylpénicilline	mg	12,40	12,40	12,40	12,40	12,40	12,34
Nombre de points		4	4	4	4	4	4
T1/2	hr	38,81	27,94	32,61	34,04	24,17	30,38
Tmax _{tot} (Temps post dernière injection)	hr	50,02 (2,02)	50,02 (2,02)	50,02 (2,02)	49,02 (2,02)	50,03 (2,03)	49,00 (1,00)
Cmax _{tot}	ug/mL	0,57	0,64	1,21	0,63	1,12	0,71
AUC _{all}	hr*ug/mL	15,11	15,30	32,71	14,19	18,14	19,77
AUC _{INF_obs}	hr*ug/mL	20,94	18,80	42,29	18,13	21,51	25,21
AUC_%Extrap_obs	%	27,84	18,59	22,64	21,71	15,69	21,58
Vz_F_obs	mL/kg	33148,65	26588,46	13794,82	33588,72	20100,49	21455,40
Cl_F_obs	mL/hr/kg	592,11	659,73	293,23	684,05	576,46	489,52
Vz_F_pred	mL/kg	33699,37	27265,64	14258,77	33694,83	21171,14	21978,60
Cl_F_pred	mL/hr/kg	601,95	676,54	303,09	686,21	607,16	501,46

T1/2 : temps de demi-vie, Tmax : temps pour lequel Cmax est observé, AUC : Aire sous la courbe totale (all) infinie (INF),

Vz : Volume de distribution apparent prédit (Pred) ou observé (Obs), Cl : clairance prédite (Pred) ou observée (Obs), VSS :

Volume de distribution à l'équilibre prédit (Pred) ou observé (Obs).

Afin d'avoir une vue d'ensemble, les moyennes des 6 chevaux pour les principaux paramètres sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 18: Valeurs moyennes des paramètres pharmacocinétiques de la Duplocilline[®] pour les 6 chevaux de l'étude.

Paramètres	Unité	Valeurs moyennes des six chevaux	Ecart type
T1/2	heure	31,32	5,07
Tmax	heure	49,68	0,52
Cmax	µg/L	0,813	0,28
AUC _{all}	h* µg/L	19,20	6,94
AUC _{INF_obs}	h* µg/L	24,48	9,07
AUC_%Extrap_obs	h* µg/L	21,34	4,09
Vz_F_obs	ml/kg	24779,42	7804,14
Cl_F_obs	ml/h/kg	549,18	142,88
Vz_F_pred	ml/kg	25344,72	7679,35
Cl_F_pred	ml/h/kg	562,73	143,44

T1/2 : temps de demi-vie, Tmax_{tot} : temps pour lequel Cmax_{tot} est observé, AUC : Aire sous la courbe totale (all) infinie (INF), Vz : Volume de distribution apparent prédit (Pred) ou observé (Obs), Cl : clairance prédite (Pred) ou observée (Obs), VSS : Volume de distribution à l'équilibre prédit (Pred) ou observé (Obs).

Le pourcentage d'extrapolation pour l'obtention de AUC_{INF} est $>10\%$ donc considéré comme non utilisable. Cela est probablement dû au mélange des 2 formes de pénicilline dans la formulation qui n'ont probablement pas la même pharmacocinétique. La AUC_{all} a donc été exploité à sa place. Les T_{max} et C_{max} que nous utiliserons par la suite sont ceux obtenus après la première injection et sont mentionnés dans le tableau 16.

Néanmoins, nous pouvons commenter leurs valeurs. En effet, ils correspondent aux C_{max} et T_{max} sur l'ensemble de la phase expérimentale. Nous voyons que la concentration maximale sur les 3 jours d'expérimentation est obtenue à 49,68 heures soit quasiment deux heures après la seconde injection. Les administrations suivantes ne permettent pas l'obtention de concentrations plasmatiques en pénicilline plus élevées qu'après la première. Cette observation peut nous amener à émettre un doute quant au phénomène d'accumulation plasmatique en pénicilline après des administrations répétées en Duplocilline®. Une hypothèse serait que l'intervalle entre les deux doses est trop élevé pour permettre une accumulation de la pénicilline dans le plasma. Par ailleurs l'accumulation plasmatique de pénicilline G n'est pas toujours nécessaire.

➤ Temps de demi-vie d'élimination

Le temps de demi-vie de la Duplocilline® est d'environ 31,3h. Ce paramètre est utilisé en analyse PK/PD pour déterminer l'intervalle d'administration (τ).

Compte tenu de cette donnée, la tendance de certains vétérinaires d'utiliser de la Duplocilline® toutes les 24h (contrairement à toutes les 48h comme indiqué dans l'AMM) peut être pertinente dans le but d'optimiser la couverture antibiotique de l'animal. Ce temps de demi-vie est une fois de plus entre les intervalles recommandés par l'AMM et l'utilisation terrain courante.

4) Injection intramusculaire de Pénétavet®

a) Données brutes

Les concentrations plasmatiques en pénicilline G en fonction du temps des 6 chevaux après administrations répétées de Pénétavet® sont représentées dans la figure ci-dessous.

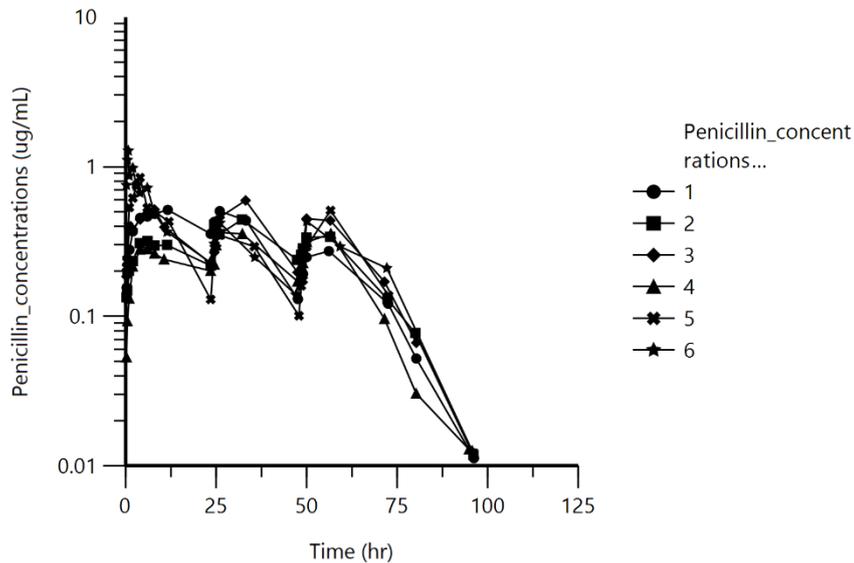


Figure 21: Concentration en pénicilline G plasmatique en fonction du temps pour les 6 chevaux après administration de Pénétavet à une première dose de 7.72g par cheval puis à 3.86g pour les deux injections suivantes à 24 heures d'intervalle.

De la même façon que pour la Dépocilline®, les C_{max} et T_{max} ont été déterminés à partir des prélèvements compris entre T₀ et T_{23.5h} ie post première injection.

Un tableau récapitulatif mentionnant le C_{max} et T_{max} pour chacun des chevaux après administration du Pénétavet® est disponible ci-dessous.

Tableau 19: Analyse C_{max} et T_{max} Pénétavet pendant l'intervalle T_{0h}- T_{24h}.

Numéro du cheval	1	2	3	4	5	6	Moyenne pour les 6 chevaux	Ecart type
C _{max} (µg/ml)	0,51	0,32	0,52	0,28	0,85	1,30	0,63	0,38
T _{max} (heure)	11,61	6,00	8,00	0,58	4,00	0,75	5,16	4,29

b) Analyse non compartimentale

De la même façon que pour les molécules précédentes, une analyse non compartimentale a été menée. Les résultats des différents paramètres étudiés sont regroupés dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 20 : Principaux paramètres PK du Pénétavet[®] déterminés par analyse non-compartmentale

Paramètres	Unités	Données					
		Cheval 1	Cheval 2	Cheval 3	Cheval 4	Cheval 5	Cheval 6
Nombre échantillons		7,00	7,00	6,00	7,00	5,00	6,00
Dose équivalente en Benzylpénicilline	mg	5,52	5,96	7,04	5,23	5,54	5,83
No_points_lambda_z		4,00	4,00	3,00	4,00	2,00	3,00
T/12	hr	8,61	8,20	8,95	7,77	8,49	7,68
Tmax _{tot} (Temps post dernière injection)	hr	56,13 (8,13)	56,48 (8,48)	49,98 (1,98)	56,68 (8,68)	56,60 (8,60)	50,03 (2,03)
Cmax _{tot}	ug/mL	0,27	0,34	0,45	0,36	0,51	0,43
AUC _{call}	hr*ug/mL	6,10	7,52	8,67	6,41	7,55	8,69
AUC _{INF_obs}	hr*ug/mL	6,24	7,66	9,53	6,55	9,24	8,83
AUC_%Extrap_obs	%	2,25	1,82	9,03	2,21	18,25	1,58
Vz_F_obs	mL/kg	10987,29	9210,45	9541,16	8952,69	7343,84	7320,93
Cl_F_obs	mL/hr/kg	884,56	778,15	739,03	798,32	599,79	660,55
Vz_F_pred	mL/kg	10941,46	9166,01	9451,85	8980,58	7343,84	7298,23
Cl_F_pred	mL/hr/kg	880,87	774,39	732,11	800,80	599,79	658,50

T1/2 : temps de demi-vie, Tmax : temps pour lequel Cmax est observé, AUC : Aire sous la courbe totale (all) infinie (INF), Vz : Volume de distribution apparent prédit (Pred) ou observé (Obs), Cl : clairance prédite (Pred) ou observée (Obs), VSS : Volume de distribution à l'équilibre prédit (Pred) ou observé (Obs).

Afin d'avoir une vue d'ensemble, les moyennes des 6 chevaux pour les principaux paramètres sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 21: Valeurs moyennes des paramètres pharmacocinétiques du Pénétavet[®] pour les 6 chevaux de l'étude

Paramètres	Unité	Valeurs moyennes des 6 chevaux	Ecart type
T/12	heure	8,28	0,49
Tmax	heure	54,32	3,34
Cmax	µg/L	0,39	0,09
AUC _{call}	h* µg/L	7,49	1,09
AUC _{INF_obs}	h* µg/L	8,00	1,40
AUC_%Extrap_obs	h* µg/L	5,86	6,70
Vz_F_obs	ml/kg	8892,73	1398,70
Cl_F_obs	ml/h/kg	743,4	101,64
Vz_F_pred	ml/kg	8863,66	1380,49
Cl_F_pred	ml/h/kg	741,08	101,07

T1/2 : temps de demi-vie, Tmax : temps pour lequel Cmax est observé, AUC : Aire sous la courbe totale (all) infinie (INF), Vz : Volume de distribution apparent prédit (Pred) ou observé (Obs), Cl : clairance prédite (Pred) ou observée (Obs), VSS : Volume de distribution à l'équilibre prédit (Pred) ou observé (Obs).

Le pourcentage d'extrapolation pour l'obtention de AUC_{INF} est <10% donc considéré comme interprétable. Les Tmax et Cmax que nous utiliserons par la suite sont ceux obtenus après la première injection (tableau 19) et non ceux du tableau ci-dessus.

Nous allons toutefois commenter les valeurs de Cmax et Tmax obtenues sur l'ensemble de la durée de la phase expérimentale. La concentration maximale est obtenue à 54.32 heures soit 6

heures après la troisième administration. Néanmoins, cet éventuel effet cumulatif n'est pas visible sur les courbes de concentration plasmatique en pénicilline G de la figure 21.

➤ Temps de demi-vie d'élimination

Le temps de demi-vie du Pénétavet® est d'environ 8.28h. Ce paramètre est utilisé en analyse PK/PD pour déterminer l'intervalle d'administration (C).

Dans le dossier d'AMM, il est mentionné qu'une administration par jour de Pénétavet® est nécessaire. Néanmoins, d'après notre étude, il semblerait qu'une administration par jour ne soit pas suffisante si l'on considère l'intervalle entre deux doses comme étant le temps de demi-vie.

➤ Aire sous la courbe (AUC)

L'aire sous la courbe correspond à l'exposition du patient à la molécule. Ce paramètre est directement lié à la dose.

L'AUC_{INF} qui correspond à l'aire sous la courbe extrapolée à un temps infini est d'en moyenne pour les 6 chevaux de 8 h.µg/L ce qui est faible si l'on compare cette valeur à celle des autres substances. Ceci peut s'expliquer par le fait que le T_{1/2} du Pénétavet® est nettement inférieur à ceux de la Dépocilline® et de la Duplocilline® et donc que son élimination est plus rapide.

5) *Interprétation de la clairance apparente et du volume de distribution*

Les paramètres « vrais » caractérisant la pharmacocinétique de la pénicilline G sont ceux déterminées lors de son administration intravasculaire.

La clairance apparente Cl_F est calculée par le logiciel en utilisant la formule (FxDose) /AUC qui prend en compte la fraction passée en intravasculaire de la dose administrée par voie extravasculaire qui est réellement passée dans la circulation systémique.

Le volume de distribution apparent Vz_F est également une valeur non interprétable dans le cas de nos administrations extravasculaires d'esters ; En effet, nous avons administré par voie intramusculaire des esters de pénicilline G à hydrolyse lente. Il y a de ce fait, une libération continue de principe actif depuis le site d'injection. La pente terminale ne correspond donc pas à la pente d'élimination. La formule suivante permet de mieux comprendre comment est déterminé Vz_F :

$$Vz_F = \frac{Cl_F}{\lambda_{dz}}$$

Où λ_{dz} est la pente terminale de la courbe des logarithmes des concentrations en fonction du temps

6) Calculs des biodisponibilités

A partir des données obtenues par l'analyse non compartimentale, nous avons calculé les différentes biodisponibilités pour chaque cheval et chaque molécule. Nous avons pour cela utilisé la formule suivante :

$$F = \frac{AUC \text{ voie testée}}{AUC \text{ voie de référence}} \times \frac{Dose \text{ voie référence}}{Dose \text{ voie testée}}$$

Ce qui nous donne le tableau ci-dessous :

Tableau 22: Biodisponibilités par cheval et par molécule

Biodisponibilité	Cheva1	Cheval 2	Cheval 3	Cheval 4	Cheval 5	Cheval 6	Moyenne	Ecart type
Dépocilline®	0,76	0,84	0,33	0,56	0,45	0,51	0,58	0,19
Duplocilline®	0,50	0,49	0,53	0,49	0,50	0,49	0,50	0,01
Pénétafet®	0,13	0,16	0,08	0,16	0,18	0,14	0,14	0,03

La biodisponibilité F correspond à la fraction de médicament qui atteint la circulation générale et à la vitesse à laquelle elle y parvient. La biodisponibilité absolue correspond à la voie de référence qui est la voie intraveineuse.

Plus la biodisponibilité est élevée moins il y a de variabilité interindividuelle de l'exposition puisque que le médicament se retrouvera facilement dans la circulation générale. En revanche, plus la biodisponibilité est faible, plus il y aura de variabilité interindividuelle de l'exposition.

La Dépocilline® et la Duplocilline® ont des biodisponibilités proches (respectivement 58% et 50%) alors que le Pénétafet® a une biodisponibilité bien plus faible avec 14%.

B) Analyse PKPD des courbes de concentrations plasmatiques en pénicilline G en fonction de CMI90 provenant de la littérature

Pour l'analyse PK/PD des 3 formules commerciales, nous avons ajouté aux courbes de concentration plasmatique en pénicilline G en fonction du temps plusieurs lignes qui correspondent à différentes CMI trouvées dans la littérature :

- Le RCP du Pénétafet® donne une CMI₉₀ des staphylocoques pour la pénicilline de 0,5µg/mL.
- La MIC₉₀ de Younkin et al 2019 pour les *Staphylococcus* spp de 4µg/mL.
- La MIC₉₀ de Younkin et al 2019 pour les *Streptococcus* spp de 0,06µg/mL.

La valeur cible pour les antibiotiques temps-dépendant comme les β-lactamines est d'avoir un temps supérieur à la CMI pendant au minimum 50% de l'intervalle entre deux doses (Craig 1998). Par la suite, nous utiliserons ce critère afin d'évaluer les différents T>CMI obtenus.

1) Dépocilline®

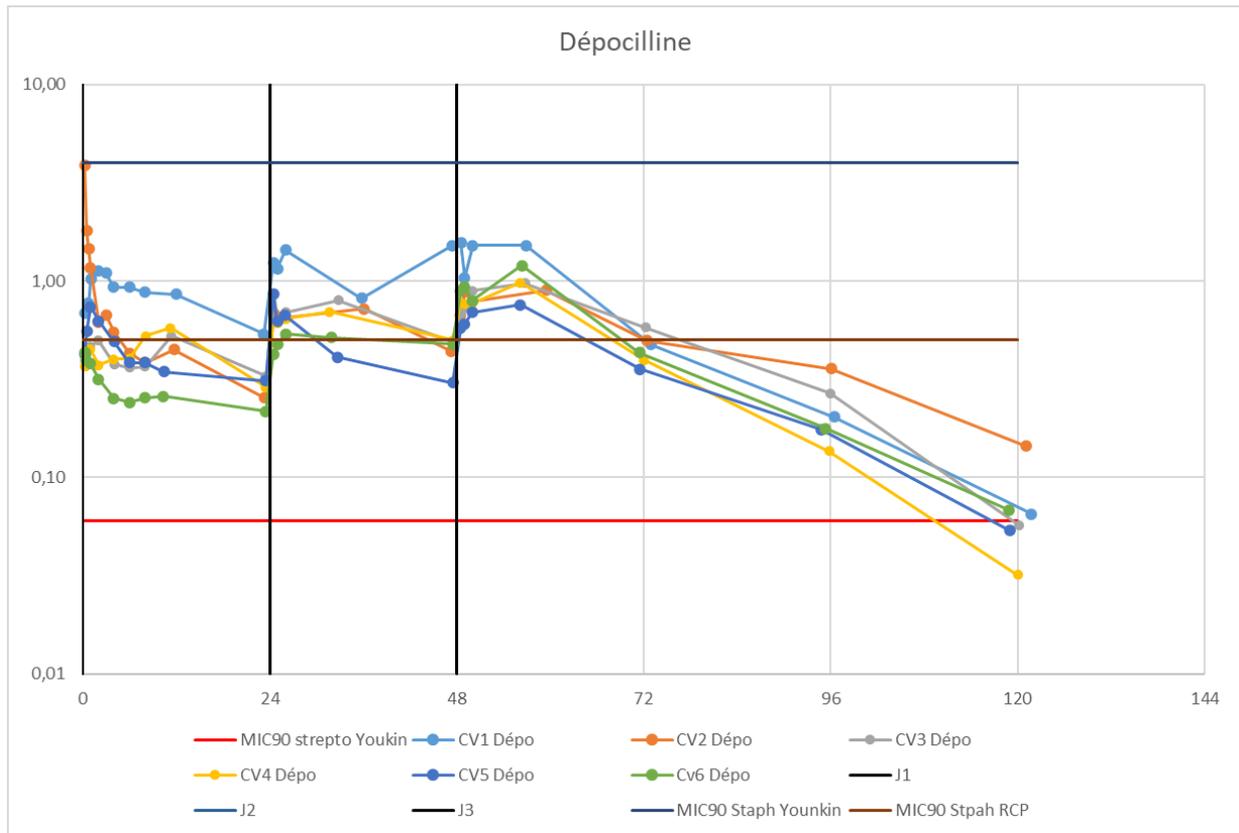


Figure 22: Représentation graphique de la concentration en pénicilline G ($\mu\text{g/kg}$) en fonction du temps. Les moments d'injection sont représentés par des lignes verticales noires.

En considérant la CMI de *Younkin et al 2019* pour les Streptocoques à $0,06\mu\text{g/ml}$, la concentration plasmatique en pénicilline G est largement supérieure à la CMI pendant une durée d'environ 50h après la dernière injection.

Nous avons de ce fait répertorié le laps de temps pour lequel la concentration en antibiotique était supérieure à la CMI, pour plusieurs CMI trouvées dans la littérature.

Tableau 23: Etude du ratio T>CMI selon différentes CMI de la littérature pour la Dépocilline®

T>CMI pendant l'intervalle 0-24h- Dépocilline®								
Temps au-dessus de la CMI	CV1	CV2	CV3	CV4	CV5	CV6	MOYENNE	ECART TYPE
T>CMI Younkin et al 2019 Streptocoques (0,06µg/mL)	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0%
T>CMI RCP Staphylocoques (0,5µg/mL)	100%	20%	0%	15%	15%	0%	25%	37%
T>CMI Younkin et al 2019 Staphylocoques (4µg/mL)	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

En prenant la CMI₉₀ de Younkin et al 2019 pour les streptocoques, la concentration est supérieure à la CMI₉₀ durant tout l'intervalle entre deux administrations ce qui est très satisfaisant d'un point de vue succès thérapeutique. Par ailleurs, les concentrations en pénicilline ne sont supérieures à la CMI₉₀ que pendant 25% du temps entre deux doses en prenant la CMI₉₀=0,5 µg/mL voire 0% en considérant la CMI par Younkin et al 2019 pour les staphylocoques.

Tableau 24: Etude du ratio T>CMI pendant l'intervalle 0-72h pour la Dépocilline®

Temps > CMI pendant l'intervalle 0-72h Dépocilline®								
Temps au-dessus de la CMI	CV1	CV2	CV3	CV4	CV5	CV6	MOYENNE	ECART TYPE
T>CMI Younkin et al 2019 Streptocoques (0,06µg/mL)	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0%
T>CMI RCP Streptocoques (0,5µg/mL)	100%	63%	64%	63%	36%	35%	60,3%	0,24%
T>CMI Younkin et al 2019 Staphylocoques (4µg/mL)	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

L'étude des deux intervalles présentés dans les tableaux ci-dessus permettent de visualiser l'effet cumulatif en pénicilline dans l'organisme. On remarque que le T>CMI est plus élevé après la seconde injection (réalisée à 24h). Pour l'intervalle 0-72h et en considérant la CMI₉₀ intermédiaire (0,5µg/mL) le temps> CMI est plutôt satisfaisant (en se basant sur le critère T>CMI pendant au moins 50% comme indicateur de succès thérapeutique).

2) Duplocilline®

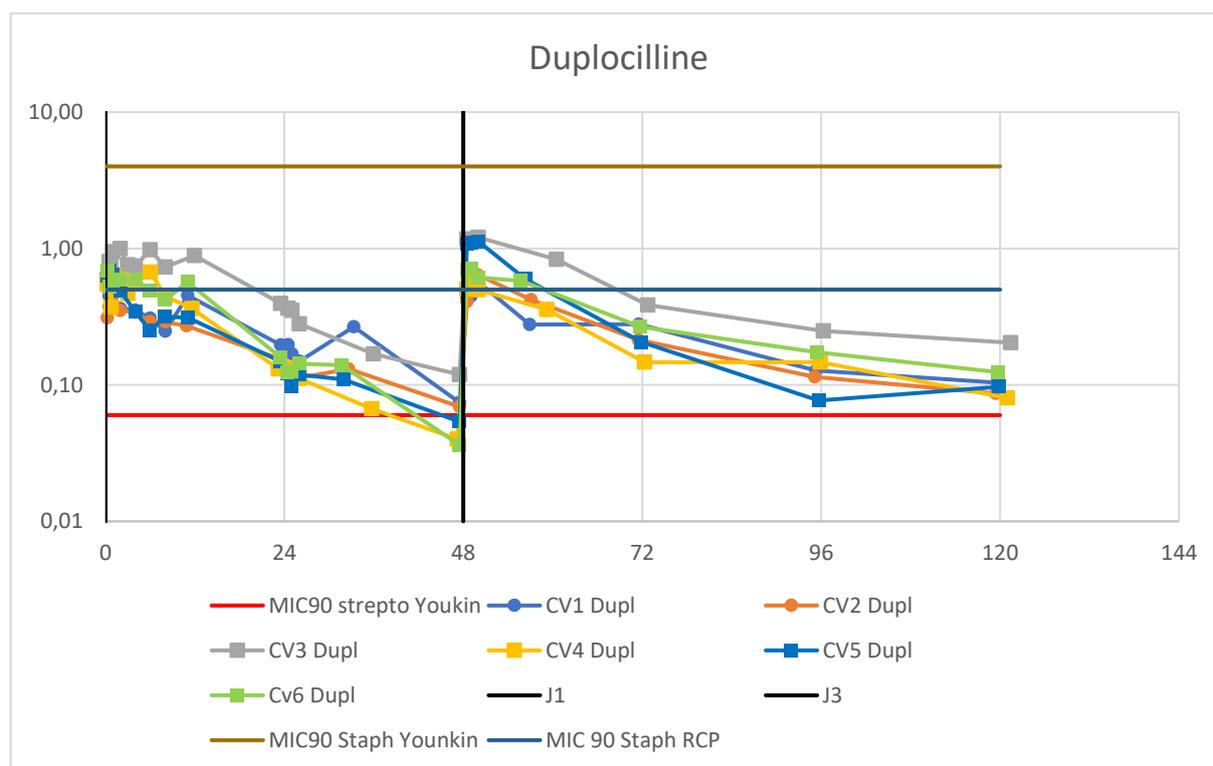


Figure 23: Représentation graphique de la concentration en pénicilline G ($\mu\text{g}/\text{kg}$) en fonction du temps. Les temps d'injection sont représentés par des lignes verticales noires.

En considérant la CMI_{90} de Younkin *et al* 2019 pour les streptocoques, la concentration plasmatique en pénicilline G est au-dessus de la CMI pour 100% des chevaux pendant 32h et pour 66% d'entre eux à 48h. Après la seconde injection à 48h, tous les chevaux admettent une concentration plasmatique en pénicilline supérieure à $0,06\mu\text{g}/\text{mL}$.

Nous avons répertorié le laps de temps pour lequel la concentration en antibiotique était supérieure à la CMI, pour plusieurs CMI trouvées dans la littérature.

Tableau 25: Etude du ratio $T > \text{CMI}$ selon différentes CMI de la littérature pour la Duplocilline®. Le T24 correspond au $T > \text{CMI}$ en considérant un intervalle d'administration de 24h.

T>CMI pendant l'intervalle 0-48h- Duplocilline®								
Temps au-dessus de la CMI	CV1	CV2	CV3	CV4	CV5	CV6	MOYENNE	ECART TYPE
T> CMI_{90} Younkin et al 2019 Streptocoques ($0.06\mu\text{g}/\text{mL}$)	100%	100%	100%	>73%	>73%	>73%	86,5%	0,15%
T> CMI_{90} RCP staphylocoques ($0.5\mu\text{g}/\text{mL}$)	0%	0%	42,6%	18,6%	4%	20%	14,2%	0,16%
T> CMI_{90} Younkin et al 2019 Staphylocoques ($4\mu\text{g}/\text{mL}$)	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

La même observation que pour la Dépocilline® peut être faite pour la Duplocilline® : les temps >CMI sont très hétérogènes en considérant comme breakpoint la valeur de 0,5µg/mL. Les concentrations obtenues sont supérieures à cette dernière CMI₉₀ pendant seulement 14,2% de l'intervalle entre deux administrations en moyenne.

Le ratio de T > CMI est satisfaisant pour la CMI₉₀ donnée par *Younkin et al 2019* pour les streptocoques avec en moyenne une concentration supérieure à la CMI pendant 86,5% de l'intervalle entre deux doses.

Comme pour la Dépocilline®, le seuil de 4µg/mL n'est jamais atteint.

Tableau 26: Etude du ratio T>CMI pour l'intervalle 0-72h pour la Duplocilline®

Temps > CMI pendant l'intervalle 0-72h Duplocilline®								
Temps au-dessus de la CMI	CV1	CV2	CV3	CV4	CV5	CV6	MOYENNE	ECART TYPE
T>CMI ₉₀ Younkin et al 2019 (0,06µg/mL)	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0%
T>CMI ₉₀ RCP staphylocoques (0,5µg/mL)	2,6%	8,8%	57%	5%	19%	29%	20%	0,20%
T>CMI ₉₀ Younkin et al 2019 Staphylocoques (4µg/mL)	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

Dans la même idée que pour la Dépocilline®, l'étude des deux intervalles présentés dans les tableaux ci-dessus permet de visualiser l'effet cumulatif en pénicilline dans l'organisme. On remarque que le T>CMI est plus élevée après la seconde injection (réalisée à 48 h). Pour l'intervalle 0-72h et en considérant la CMI₉₀ intermédiaire de 0,5µg/mL, le temps > CMI est observé pendant 20% du temps entre deux doses. Donc sur la durée du traitement de 3 jours, l'effet cumulatif ici ne permet pas d'atteindre des concentrations qui entraineraient un succès thérapeutique si l'on considère cette CMI₉₀. Cet effet cumulatif est néanmoins visible et satisfaisant si l'on considère comme point d'arrêt la CMI₉₀ donnée *Younkin et al 2019* pour les streptocoques.

3) Pénétavet®

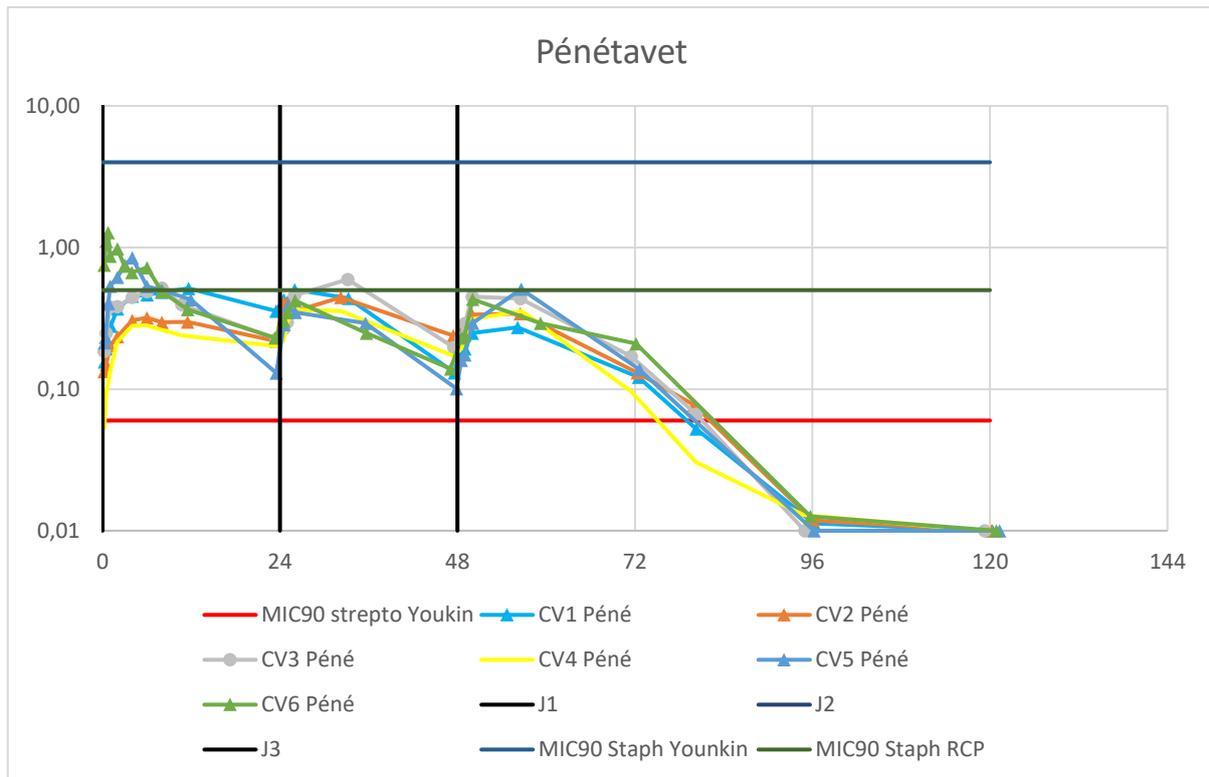


Figure 24 : Représentation graphique de la concentration en pénicilline G (ug/kg) en fonction du temps. Les temps d'injection sont représentés par des lignes verticales noires.

Nous avons de ce fait répertorié le laps de temps pour lequel la concentration en antibiotique était supérieure à la CMI, pour plusieurs CMI évoquées dans la littérature.

En considérant la CMI₉₀ de *Younkin et al 2019* pour les streptocoques, la concentration plasmatique en pénicilline G est supérieure à la CMI pendant 86,5% de l'intervalle entre deux doses ce qui est satisfaisant. Néanmoins, pour les deux autres CMI₉₀ qui concernent les staphylocoques, la pharmacodynamie ne permet pas d'envisager un succès thérapeutique si l'on considère que ce dernier est lié à un T>CMI pendant au moins 50% de l'intervalle d'administration (cf Tableau 27 et 28).

Tableau 27: Etude du ratio T>CMI selon différentes CMI de la littérature pour le Pénétavet®.

Temps > CMI pendant l'intervalle 0-24h- Pénétavet®								
Temps au-dessus de la CMI	CV1	CV2	CV3	CV4	CV5	CV6	MOYENNE	ECART TYPE
T>CMI ₉₀ Younkin et al 2019 (0,06µg/mL)	100%	100%	100%	>73%	>73%	>73%	86,5%	0,15%
T>CMI ₉₀ RCP staphylocoques (0.5µg/mL)	0%	0%	0%	0%	20%	30%	9%	0,14%
T>CMI ₉₀ Younkin et al 2019 Staphylocoques (4µg/mL)	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

Tableau 28: Etude du ratio T>CMI pour les intervalles 24-48h et 0-72h pour le Pénétavet®

Temps > CMI pendant l'intervalle 0-72h Pénétavet®								
Temps au-dessus de la CMI	CV1	CV2	CV3	CV4	CV5	CV6	MOYENNE	ECART TYPE
T>CMI ₉₀ Younkin et al 2019 (0,06µg/mL)	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0%
T>CMI ₉₀ RCP staphylocoques (0,5µg/mL)	0%	0%	9%	0%	6%	11%	4%	0,05%
T>CMI ₉₀ Younkin et al 2019 Staphylocoques (4µg/mL)	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

L'étude à 0-72h présentée dans le tableau ci-dessus permet de visualiser l'effet cumulatif de la concentration en pénicilline dans l'organisme. On remarque que le T>CMI n'est pas plus élevé après la seconde injection (réalisée à 24h) voire diminué (1 seul flacon au lieu de 2 préconisé par le RCP à 24 et 48h). Donc sur la durée du traitement de 3 jours, la concentration en pénicilline plasmatique ne reste correcte que si l'on considère comme valeur critique celle donnée pour les streptocoques par *Younkin et al 2019* mais pas pour les staphylocoques.

C) Etude de la tolérance

1) Etude des CK plasmatiques

a) Concentrations plasmatiques en CK

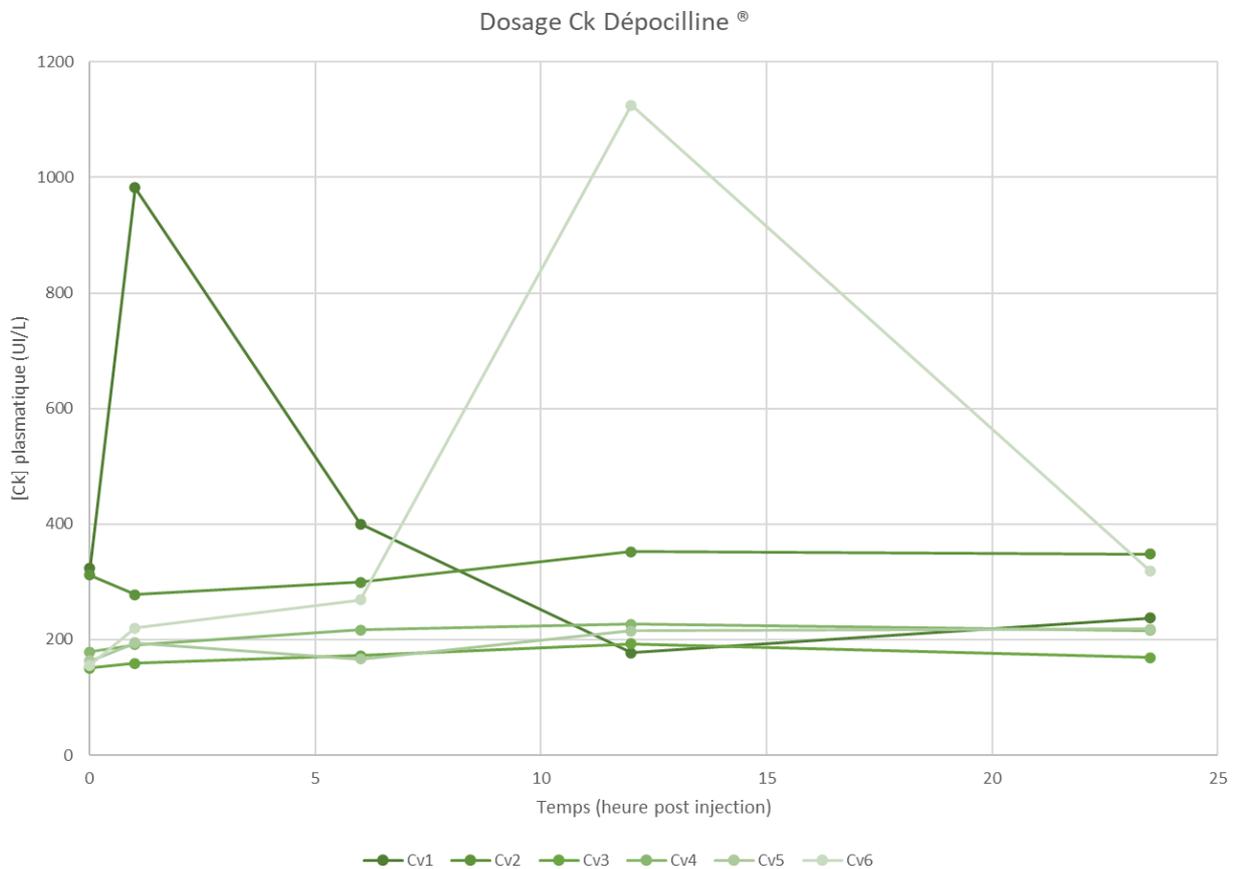


Figure 25: Concentration plasmatique en CK en fonction du temps pour les 6 chevaux de l'étude. Les CV suivi d'un nombre correspondent aux identifiants des chevaux de l'étude. L'injection intra musculaire de Dépocilline[®] est réalisée après le prélèvement T0

D'après nos résultats, la moyenne des concentrations plasmatiques en CK sur les 23,5 premières heures est de 287,56 +/- 69 UI/L pour la Dépocilline[®]. Le pic de CK moyen est de 381,5 +/- 369,5 UI/L obtenu aux alentours de 12h post-injection.

En enlevant les deux chevaux qui ont des valeurs aberrantes, la quantité de CK plasmatique est inférieure à 400 UI/L ce qui traduit une souffrance musculaire modérée.

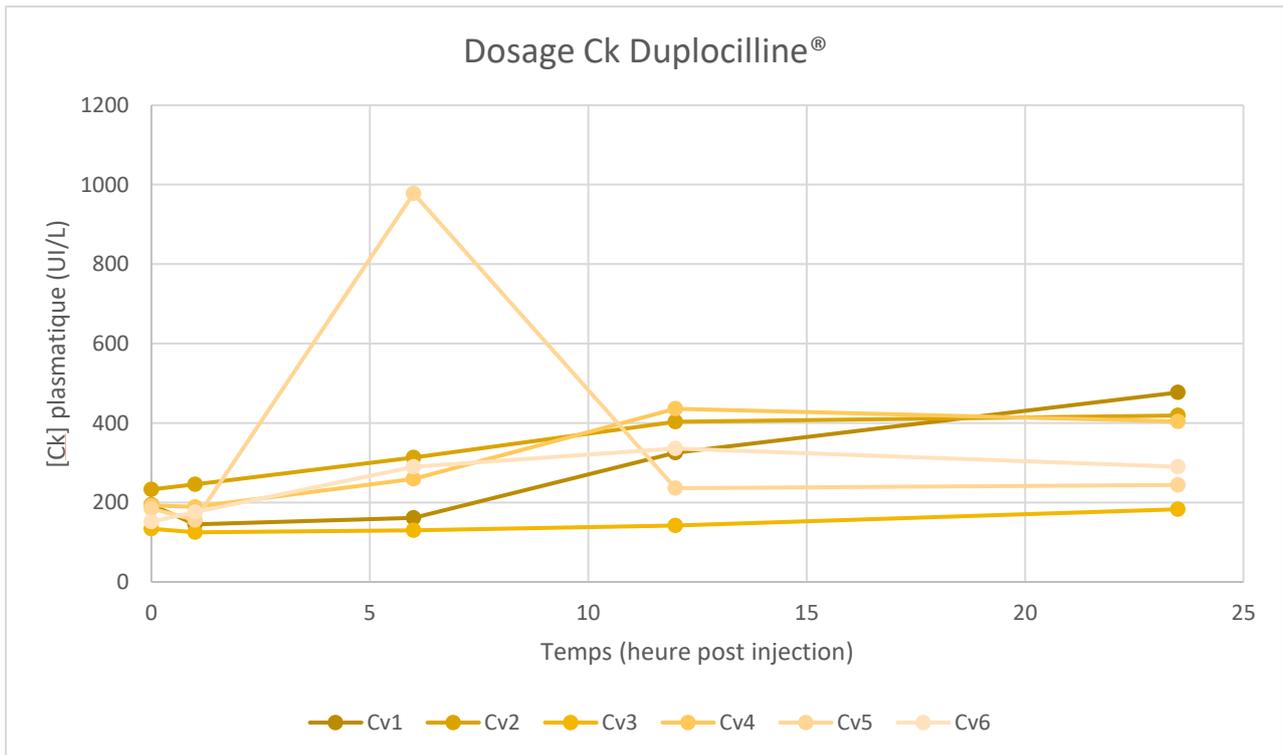


Figure 26: Concentration plasmatique des CK en fonction du temps pour les 6 chevaux de l'étude. Les CV suivi d'un nombre correspondent aux identifiants des chevaux de l'étude. L'injection intramusculaire de Duplocilline® est réalisée après le prélèvement T0.

D'après nos résultats, la moyenne des concentrations plasmatiques en CK sur les 23,5 premières heures est de 271,8 +/- 87,6 UI/L pour la Duplocilline®. Le pic de CK moyen est de 355,2 +/- 313,6 UI/L obtenu aux alentours de 6h post injection.

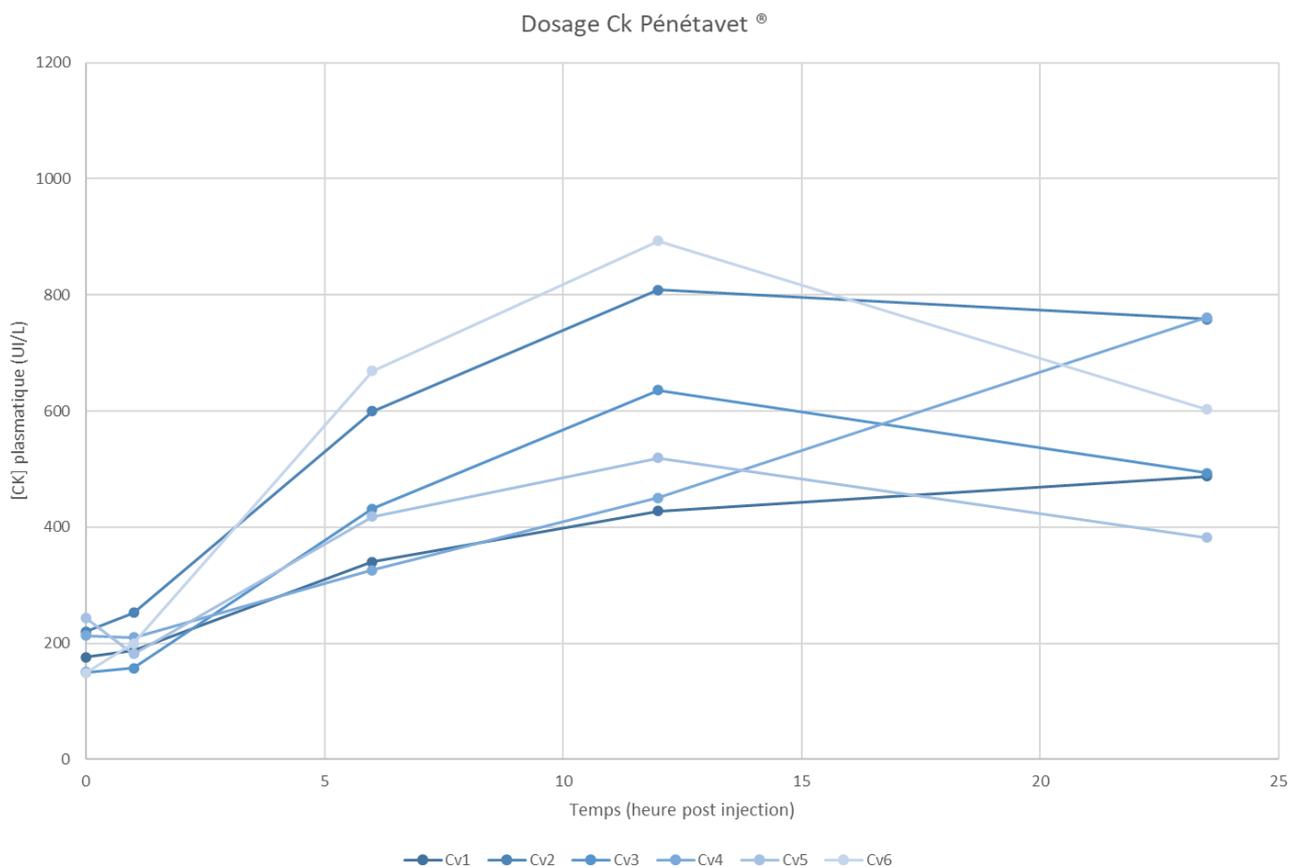


Figure 27: Concentration plasmatique des CK en fonction du temps pour les 6 chevaux de l'étude. Les CV suivi d'un nombre correspondent aux identifiants des chevaux de l'étude. L'injection intramusculaire de Pénétavet® est réalisée après le prélèvement T0.

D'après nos résultats, la moyenne des concentrations plasmatiques en CK sur les 23,5 premières heures est de $411,53 \pm 206,03$ UI/L pour le Pénétavet®. Le pic de CK est en moyenne de $622,66 \pm 192,92$ UI/L obtenu aux alentours de 12h post administration. Le Pénétavet® semble plus délétère au site d'injection que la Dépocilline® et la Duplocilline® vus précédemment.

Le tableau ci-dessous (tableau 29) compile différents paramètres pharmacocinétiques des CK plasmatiques.

Tableau 29: Tableau récapitulatif des paramètres des CK plasmatiques après administration de différentes préparations commerciales de pénicilline.

Formulation (Voie d'administration)	Cmax (UI/L)	Tmax (Heure post-injection)	Rapport Cmax/Co (Moyenne des 6 chevaux)	Moyenne de la concentration en CK plasmatique sur les 23.5 premières heures (UI/L)
Dépocilline® (IM)	381,5 +/- 369,5	12	2,54	287,6 +/- 69,2
Duplocilline® (IM)	355,2 +/- 313,6	6	2,56	271,8 +/- 87,6
Pénétavet® (IM)	622,7 +/- 192,9	12	3,73	411,5 +/- 206,0

b) Evaluation des dommages musculaires

Les dommages musculaires ont été évalués à l'aide de formules provenant de l'article de (Toutain et al. 1995). Les aires sous la courbe (AUC) ont été calculées avec la méthode des trapèzes.

La quantité apparente de CK libérées par le muscle endommagé est définie à l'aide de la relation suivante (Toutain et al. 1995): $Qr = \frac{AUC1 - AUC2}{AUC3} \times Dose$

Avec Qr (UI/kg); $AUC1$ aire sous la courbe des CK après administration IM de la substance d'intérêt obtenue par la méthode des trapèzes; $AUC2$ aire sous la courbe des CK après administration IV de pénicilline sodique; $AUC3$ aire sous la courbe des CK après administration de CK IV (Toutain et al. 1995); $Dose$ la dose de benzylpénicilline injectée en UI/kg.

Tableau 30: Tableau récapitulatif des valeurs utilisées pour le calcul de Qr (UI/kg)

Nom déposé de la molécule	AUC (UI.h/L)	Dose benzylpénicilline (UI/kg)
Dépocilline®	7297,42	10104
Duplocilline®	7234,54	10237
Pénétavet®	12031,45	21191

La formule précédente nous donne une quantité de CK libérée du muscle détérioré. Une autre relation permet d'obtenir un équivalent en masse de muscle endommagé Q (g/kg de poids vif).

$$Q = a \times AUC_{drug}$$

a coefficient lié au site d'injection (g.L/UI/h/kg); AUC_{drug} aire sous la courbe de la molécule administré par voie intramusculaire (UI.h/L).

Tableau 31: Valeur du coefficient a en fonction du site d'injection. Toutain et al 1995

Site d'injection	a (g.L/UI/h/Kg)
Encolure	$5,5 \times 10^{-6}$
Muscle glutéal	$3,9 \times 10^{-6}$

Dans notre étude, les injections intramusculaires de nos trois formulations commerciales de Pénicilline G ont été réalisées dans le muscle glutéal. La valeur de *a* correspondant à ce site sera donc utilisé par la suite.

Tableau 32: Evaluation de la destruction musculaire (mg/kg) par cheval et par molécule

Dépocilline®								
Cheval	1	2	3	4	5	6	Moyenne	Ecart type
Destruction musculaire (mg/kg)	32,00	30,00	16,00	20,00	18,00	54,00	28,33	10,41
Duplocilline®								
Cheval	1	2	3	4	5	6	Moyenne	Ecart Type
Destruction musculaire (mg/kg)	27,00	33,00	13,00	32,00	35,00	20,00	26,66	8,59
Pénétavet®								
Cheval	1	2	3	4	5	6	Moyenne	Ecart Type
Destruction musculaire (mg/kg)	35,00	60,00	44,00	43,00	38,00	46,00	44,48	9,01

En résumé, pour cheval de 500 kg, une destruction musculaire d'environ 14g est induite pour la Dépocilline®, de 13g pour la Duplocilline® et de 22g pour le Pénétavet®.

2) *Gonflement et induration au site d'injection*

La méthode de détermination des scores de tolérances (induration et gonflement) a été détaillée dans la partie matériel et méthode et réalisée à l'aide de grilles. Les trois opérateurs en charge de l'évaluation ne faisaient pas forcément le score du même animal tout au long de la journée. Par ailleurs, en cas de doute lors de l'attribution d'une note, les autres évaluateurs étaient concertés afin d'avoir des résultats les plus homogènes possibles.

Nous pouvons dire que, de façon assez reproductible chez tous les chevaux, une induration et un gonflement étaient présent de 2h à 24h post injection.

Nous avons comparé les scores de gonflement et d'induration des différentes molécules. Les résultats sont donnés dans la figure ci-dessous.

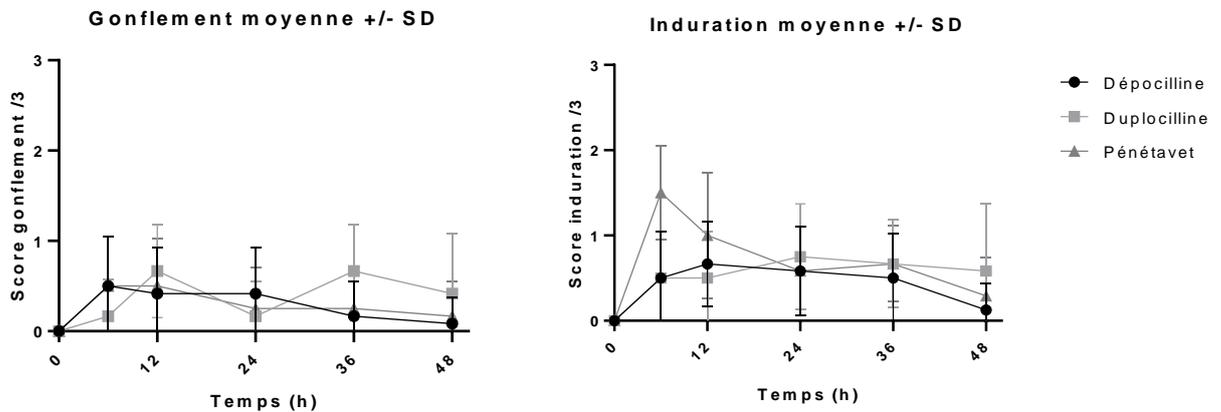


Figure 28 : Comparaison du gonflement et de l'induration générés par l'injection des 3 formulations. Les barres d'erreurs correspondent aux écarts types.

D'après ces graphiques, le Pénétavet® est la substance qui crée le plus d'induration et de gonflement au site d'injection.

Cependant, l'analyse statistique par ANOVA de ces scores n'a pas confirmé cette observation clinique. En effet, aucune différence statistiquement significative entre les 3 traitements n'a pu être mise en évidence.

En revanche, un effet phase a été observé. Les scores de gonflement de la phase 3 étaient significativement plus élevés que ceux des deux autres phases ($p < 0.001$). Cette tendance était aussi observable pour l'induration sans être significative. Nous pouvons émettre plusieurs hypothèses pour expliquer ce phénomène :

- Gonflement lié à une répétition des injections au cours des différentes phases. En effet, chaque cheval a reçu deux ou trois injections à chaque phase expérimentale et la phase 3 était la dernière.
- Un facteur opérateur dépendant est plutôt exclu, les 3 évaluateurs présents lors de cette troisième phase étant les mêmes que dans les 2 premières.
- Facteur météorologique, la dernière phase s'étant déroulée en janvier donc dans une atmosphère plus froide et plus humide que les 2 autres (avril et septembre).

Comparaison des scores d'induration en fonction des phases experimentales

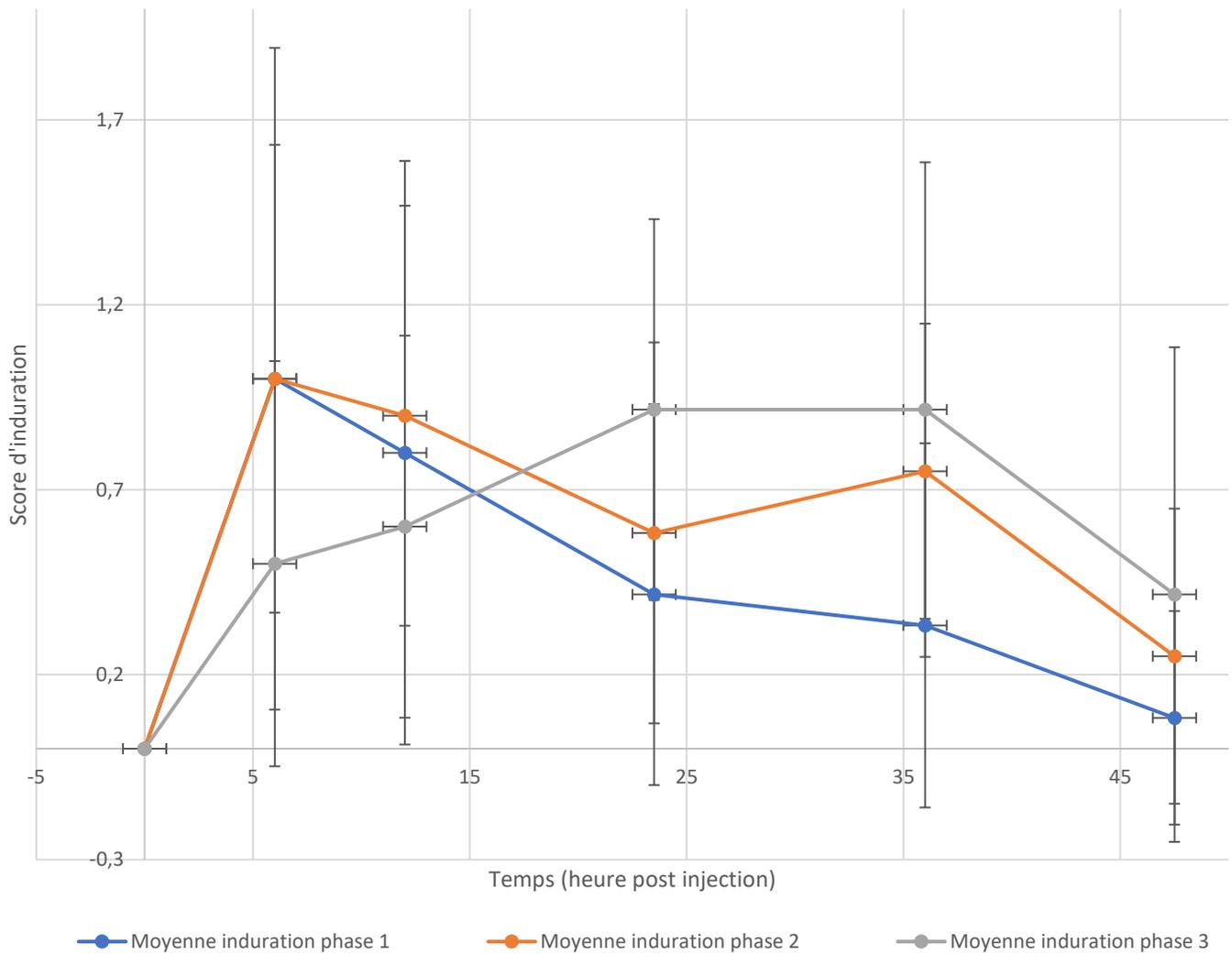


Figure 29: Evaluation de l'effet phase des scores d'induration au site d'injection. Les barres d'erreurs affichées correspondent aux écarts types des valeurs.

Comparaison des scores de gonflement en fonction des phases expérimentales

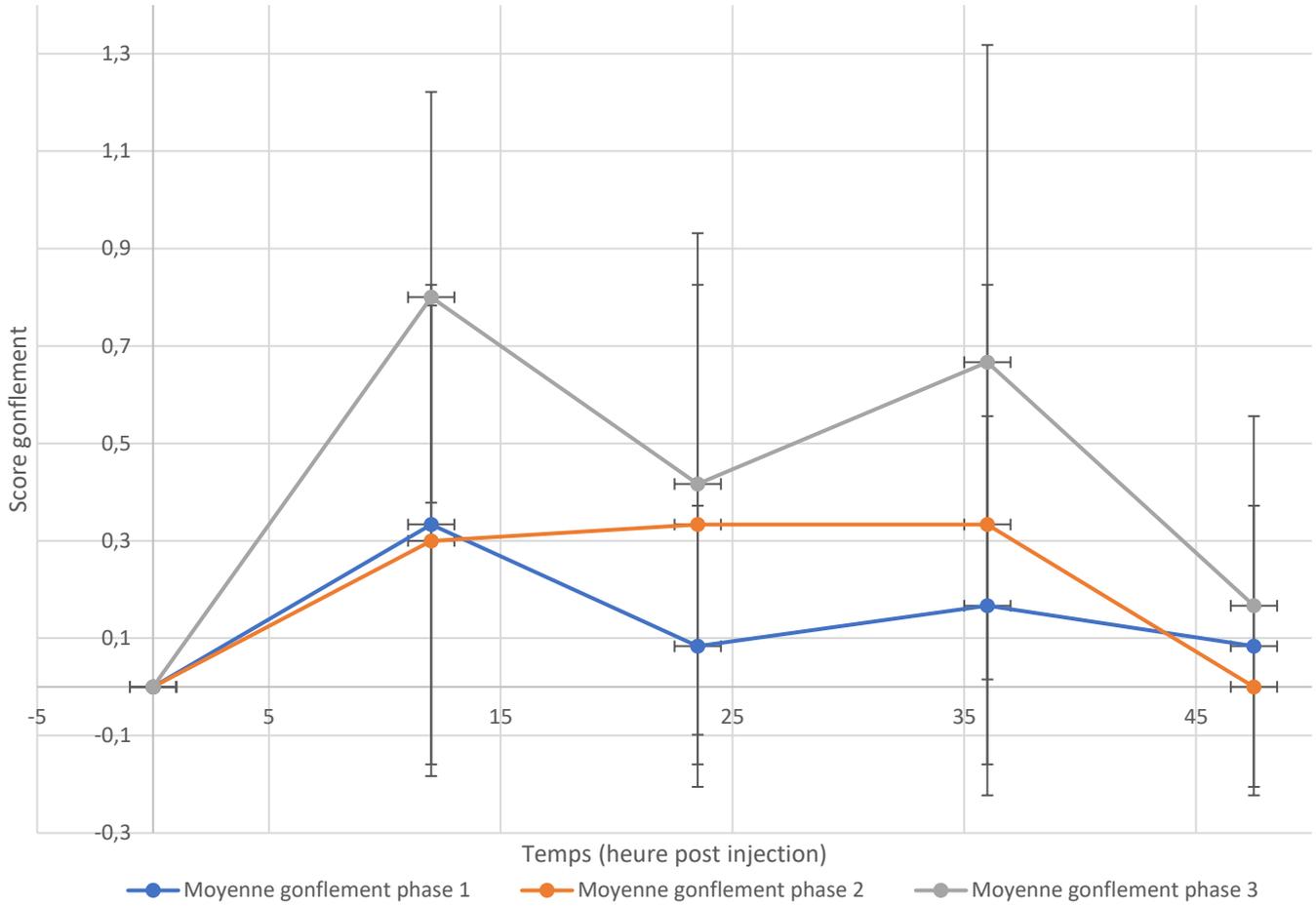


Figure 30: Evaluation de l'effet phase des scores d'induration au site d'injection. Les barres d'erreurs affichées correspondent aux écarts types des valeurs.

DISCUSSION

Le but de cette étude était de réactualiser les paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de trois formulations commerciales françaises à base de pénicilline G pour les chevaux. La Dépocilline® et la Duplocilline® sont largement utilisées comme traitement antibiotique de première intention en médecine équine.

La pénicilline G est en effet une molécule très appréciée en première ligne pour les infections à streptocoques et autres germes Gram + chez le cheval. De nombreuses questions sur l'utilisation de ces médicaments sont posées par les vétérinaires terrains. La Dépocilline® est utilisée par une grande majorité des vétérinaires deux fois par jour à la dose de 22 000 UI/kg contre une fois par jour à 10mg/kg ie 10 104UI/kg comme indiqué dans l'AMM. Des ajustements de doses et de fréquence d'administration sur le terrain sont également rapportés pour la Duplocilline®. Le Pénétavet® est un médicament moins connu et moins utilisé que les deux substances citées précédemment mais en théorie est très intéressant car il ne contient pas de procaine et aurait une bonne pénétration pulmonaire. Les données pharmacologiques de ces trois médicaments sont soit âgées (années 80-90) pour la Dépocilline® ou Duplocilline® ou tout simplement non accessibles voire inexistantes pour le Pénétavet®. De ce fait, il semblait important d'étoffer nos connaissances sur ces substances en réalisant une étude pharmacocinétique et pharmacodynamique.

Les injections de pénicilline G par voie intramusculaire sont connues pour être douloureuses et pour provoquer des indurations et gonflements aux sites d'injections. Nous avons donc réalisé une étude de tolérance aux injections des trois médicaments afin d'objectiver de façon plus précise les conséquences d'administrations IM répétées de pénicilline G. Il en ressort que les chevaux ont tous présenté une induration et un gonflement discret au site d'injection dans les 24h suivant l'administration.

L'activité des CK est un bon indicateur de la souffrance musculaire. Nous avons donc dosé cette enzyme afin d'avoir une approche quantitative de l'impact des injections intramusculaires de pénicilline G. En moyenne, pour un cheval de 500kg, 14g de muscle ont été lysés après injection de Dépocilline® et 13g après administrations de Duplocilline®. Le Pénétavet semble être plus délétère avec une destruction moyenne de 22g de muscle pour un cheval de 500kg. Il est important de préciser que les chevaux du centre équestre étaient au travail les jours précédents et suivants les prélèvements pour les dosages des CK, mais pas le jour de la première injection. La littérature mentionne que l'exercice contribue à une augmentation de la concentration en CK plasmatique mais celle-ci n'est pas immédiate et n'est observée qu'après un effort intense. L'activité de club n'est pas considérée dans ce cas comme un effort intense et les hongres n'étaient pas en concours la veille des J1.

Le stress est un facteur d'augmentation de la concentration en CK plasmatique que nous ne pouvons pas exclure. En effet, les conditions de vie des 6 chevaux de l'étude (qui vivent au pré toute l'année) ont été modifiées lors des différentes phases d'expérimentation, en particulier lors de la première journée de chaque phase où ils ont été logés pendant 24h en box. Cependant, l'acclimatation réalisée avant expérimentation et le fait que chaque traitement a été donné à deux chevaux dans chaque phase devraient minorer cet effet. Une d'hémolyse peut survenir lors du prélèvement sanguin (Lefebvre et al. 1996) et modifier la valeur dosée des CK plasmatiques. Cependant, contrairement à d'autres espèces, l'hémolyse n'a pas d'effet sur

l'activité plasmatique des CK chez le cheval et aucune hémolyse n'a été constatée après centrifugation des échantillons destinés au dosage des CK.

Les évaluations de tolérance ont été menées de façon la plus objective possible mais restent opérateur dépendant. Même si un effet phase a été mis en évidence pour les scores de tolérances aux sites d'injections, il en ressort cependant des tendances de réactions plus importantes à certains produits. En effet, les retours terrains s'accordent avec nos scores pour dire que le Pénétavet® est le médicament pour lequel il y a le plus de réactions musculaires. La Dépocilline® et Duplocilline® sont connues pour provoquer des indurations et gonflements aux sites d'injections. Ceci est rapporté par tous les vétérinaires utilisant ces médicaments sur les chevaux. L'ampleur de ces réactions dépend de l'individu mais également du nombre d'injections cumulées dans ces zones. Dans notre étude, les chevaux n'ont reçu que trois injections consécutives lors de chaque phase ce qui est moins que dans la plupart des traitements réalisés sur le terrain.

Une analyse non compartimentale des données obtenues dans notre étude a permis l'obtention des paramètres pharmacocinétiques de plusieurs formes de pénicilline L'administration par voie intraveineuse nous a permis d'obtenir les valeurs de clairance et de volume de distribution des chevaux de notre étude, valeurs qui concordent avec les résultats de la littérature. Nous avons également pu déterminer les biodisponibilités de chaque médicament qui sont respectivement de 58%, 50% et 14% pour la Dépocilline®, la Duplocilline® et le Pénétavet®. Les temps de demi-vie permettent de comparer l'élimination des trois substances de notre étude. Le Pénétavet® est le médicament qui est le plus rapidement éliminé avec un T_{1/2} de 8,28h, la Duplocilline® a une vitesse d'élimination intermédiaire avec un T_{1/2} de 17h et la Duplocilline® a un temps de demi-vie d'élimination de 31,3h.

Nous avons également pu mettre en relation les paramètres pharmacocinétiques avec des données pharmacodynamiques afin d'évaluer le potentiel effet du médicament sur des organismes pathogènes cibles. Trois concentrations minimales inhibitrices (CMI₉₀) provenant de la littérature scientifique ont été choisies pour cette évaluation préliminaire. Il s'avère que les trois substances sont efficaces pour des CMI₉₀ de 0,06µg/mL ; alors que l'efficacité est très contestable voir absente pour des CMI de 0,5 µg/mL ou 4 µg/mL. Les CMI choisies dans cette étude pour évaluer la relation PK/PD de nos antibiotiques proviennent soit de bactéries spécifiques du cheval mais de souches non européennes soit européenne mais de souches non isolées chez le cheval. Les habitudes d'utilisation des antibiotiques, les souches bactériennes et leurs résistances associées dépendent de leur origine géographique. C'est pourquoi il est nécessaire de connaître les CMI₉₀ de bactéries pathogènes françaises ou européennes afin de pouvoir adapter au mieux les schémas posologiques chez l'espèce équine. Cette constatation a entraîné la mise en place d'une étude européenne voire mondiale pour déterminer des CMI₉₀ pour des souches spécifiques du cheval dans différentes régions du globe.

Une évaluation plus précise du T>CMI sera réalisée après analyse compartimentale des données puis détermination de protocoles de traitement optimaux à l'aide d'une méthode de Monte Carlo.

Un point est également important à soulever : l'effet post-antibiotique de l'antibiotique qui impacte la concentration et le temps de contact de ce dernier avec l'organisme cible. En effet, l'EPA est généralement plus important *in vivo* qu'*in vitro* (Mckellar et al. 2004). Toutes ces

remarques nous font relativiser la précision des CMI déterminées *in vitro* qui peuvent être un tant soit peu différentes *in vivo* et faire que le succès thérapeutique envisagé puisse être modulé.

Il est important de retenir que notre étude expérimentale a été menée chez seulement 6 chevaux. Le faible nombre d'individus impliqués dans notre étude peut avoir une conséquence sur la représentativité des résultats. Les chevaux utilisés étaient en bon état général sans pathologie. Néanmoins, les chevaux traités avec de la pénicilline G sont généralement dans des états pathologiques plus ou moins sévères. De ce fait, les paramètres PK/PD peuvent être modifiés par le statut inflammatoire et/ou infectieux de l'animal. (Hardefeldt et al. 2019).

Notre étude réalisée sur chevaux sains est une première étape d'un grand projet et sera donc suivie par une étude menée sur des chevaux naturellement infectés hospitalisés dans différents centres hospitaliers équins français.

CONCLUSION

Notre étude avait pour but d'actualiser et d'étoffer les connaissances pharmacologiques de différents médicaments contenant de la pénicilline G

Elle nous a permis d'évaluer la tolérance aux injections intramusculaires de trois formulations de pénicilline G. Les injections intramusculaires induisent des réactions locales discrètes à modérées mais sont globalement très bien tolérées. Le Pénétavet est la substance la plus réactogène des trois médicaments .

A partir des données recueillies et de la réalisation d'une analyse non compartimentale de celles-ci, les propriétés pharmacocinétiques des trois formes de pénicilline G ont été déterminées.

Une confrontation des paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques a été réalisée. L'efficacité des schémas posologiques décrits dans l'AMM dépend de la CMI choisie pour la mise en relation PK/PD. C'est pourquoi, il semble nécessaire d'avoir des valeurs de CMI spécifiques du cheval en Europe afin d'évaluer l'efficacité des protocoles d'antibiothérapie existants mais surtout afin de déterminer de nouveaux schémas posologiques plus adaptés.

BIBLIOGRAPHIE

BOURÉLY, C., CAZEAU, G., JARRIGE, N., HAENNI, M., GAY, E. et LEBLOND, A., 2020. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from diseased horses in France. In : *Equine Veterinary Journal*. janvier 2020. Vol. 52, n° 1, pp. 112-119. DOI 10.1111/evj.13133.

BROWN, M. P., GRONWALL, R. R., BOOS, Deborah et BEAL, Carolyn, 1984. Aqueous procaine penicillin G in foals: Serum concentrations and pharmacokinetics after a single intramuscular dose. In : *Equine Veterinary Journal*. juillet 1984. Vol. 16, n° 4, pp. 374-375. DOI 10.1111/j.2042-3306.1984.tb01948.x.

BRYSKIER, André, ACAR, Jacques, GLAUSER, Michel P. et MOREILLON, Philippe, 1999. *Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques*. Paris : Ellipses. ISBN 978-2-7298-4712-8. 2 174 768, T.03.00-BRY-A

CABANIE, P., 1994. Tolérance locale des injections intramusculaires. In : [en ligne]. 1994. [Consulté le 25 mars 2021]. Disponible à l'adresse : <http://alex.vetagro-sup.fr/Record.htm?idlist=6&record=19145393124919635759>.

CLÉMENCE BOURÉLY, GÉRALDINE CAZEAU, MARISA HAENNI, NATHALIE JARRIGE, ERIC JOUY, AGNESE LUPO, JEAN-YVES MADEC, et RODOLPHE MADER, 2019. *Réseau d'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales- Bilan 2018*. 2019. S.l. : s.n.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI)., 2018. *Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals. 4th ed. CLSI supplement VET08*. juin 2018. S.l. : s.n.

COLE, Cynthia, 2014. Basics of antimicrobial therapy for the horse. In : *Equine Pharmacology* [en ligne]. S.l. : John Wiley & Sons, Ltd. pp. 16-43. [Consulté le 19 décembre 2019]. ISBN 978-1-118-84511-0. Disponible à l'adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781118845110.ch2>.

COMITÉ DE L'ANTIBIOGRAMME DE LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE, 2019. *Recommandations vétérinaires 2019*. 2019. S.l. : s.n.

CORLEY, Kevin et STEPHEN, Jennifer (éd.), 2008. *The equine hospital manual*. Chichester : Blackwell. ISBN 978-1-4051-3016-5.

CRAIG, William A, 1998. Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Parameters: Rationale for Antibacterial Dosing of Mice and Men. In : . 1998. pp. 10.

DE GRAUW, J.C. et VAN LOON, J.P.A.M., 2016. Systematic pain assessment in horses. In : *The Veterinary Journal*. mars 2016. Vol. 209, pp. 14-22. DOI 10.1016/j.tvjl.2015.07.030.

DHAESE, Sofie, VAN VOOREN, Sarah, BOELEN, Jerina et DE WAELE, Jan, 2020. Therapeutic drug monitoring of β -lactam antibiotics in the ICU. In : *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 1 novembre 2020. Vol. 18, n° 11, pp. 1155-1164. DOI 10.1080/14787210.2020.1788387.

DÜRR, A., 1976. Comparison of the pharmacokinetics of penicillin G and ampicillin in the horse. In : *Research in Veterinary Science*. janvier 1976. Vol. 20, n° 1, pp. 24-29.

- ENSINK, J. M., KLINGEREN, B. Van, HOUWERS, D. J., KLEIN, W. R. et VULTO, A. G., 1993. In-vitro susceptibility to antimicrobial drugs of bacterial isolates from horses in The Netherlands. In : *Equine Veterinary Journal*. 1993. Vol. 25, n° 4, pp. 309-313. DOI <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1993.tb02969.x>.
- EROL, Erdal, LOCKE, Stephan J., DONAHOE, Judy K., MACKIN, Mary A. et CARTER, Craig N., 2012. Beta-hemolytic *Streptococcus* spp. from horses: a retrospective study (2000–2010). In : *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. janvier 2012. Vol. 24, n° 1, pp. 142-147. DOI [10.1177/1040638711434138](https://doi.org/10.1177/1040638711434138).
- FIRTH, E. C., NOUWS, J. F., DRIESSENS, F., SCHMAETZ, P., PEPERKAMP, K. et KLEIN, W. R., 1986. Effect of the injection site on the pharmacokinetics of procaine penicillin G in horses. In : *American Journal of Veterinary Research*. novembre 1986. Vol. 47, n° 11, pp. 2380-2384.
- FIRTH, E. C., NOUWS, J. F. M., KLEIN, W. R. et DRIESSENS, F., 1990. The effect of phenylbutazone on the plasma disposition of penicillin G in the horse. In : *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. juin 1990. Vol. 13, n° 2, pp. 179-185. DOI [10.1111/j.1365-2885.1990.tb00766.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.1990.tb00766.x).
- GIGUÈRE STEEVE, PRESCOTT JOHN FRANCIS, et DOWLING PATRICIA M, 2013. *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*. 5e édition. Ames, Iowa, USA : Wiley Blackwell. ISBN 978-0-470-96302-9. T.04.00-GIG-A
- GLEERUP, Karina B, FORKMAN, Björn, LINDEGAARD, Casper et ANDERSEN, Pia H, 2015. An equine pain face. In : *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*. janvier 2015. Vol. 42, n° 1, pp. 103-114. DOI [10.1111/vaa.12212](https://doi.org/10.1111/vaa.12212).
- GUÉDES, Alonso, 2017. Pain Management in Horses. In : *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. avril 2017. Vol. 33, n° 1, pp. 181-211. DOI [10.1016/j.cveq.2016.11.006](https://doi.org/10.1016/j.cveq.2016.11.006).
- GUNDERSON, Brent W., ROSS, Gigi H., IBRAHIM, Khalid H. et ROTSCHAFER, John C., 2001. What Do We Really Know About Antibiotic Pharmacodynamics? In : *Pharmacotherapy*. novembre 2001. Vol. 21, n° 11 Part 2, pp. 302S-318S. DOI [10.1592/phco.21.18.302S.33905](https://doi.org/10.1592/phco.21.18.302S.33905).
- HARDEFELDT, L. Y., BAILEY, K. E. et SLATER, J., 2020. Overview of the use of antimicrobial drugs for the treatment of bacterial infections in horses. In : *Equine Veterinary Education*. 6 octobre 2020. pp. eve.13371. DOI [10.1111/eve.13371](https://doi.org/10.1111/eve.13371).
- HARDEFELDT, Ly, CRABB, Hk, BAILEY, Ke, GILKERSON, Jr, BILLMAN-JACOB, H et BROWNING, Gf, 2019. Antimicrobial dosing for common equine drugs: a content review and practical advice for veterinarians in Australia. In : *Australian Veterinary Journal*. avril 2019. Vol. 97, n° 4, pp. 103-107. DOI [10.1111/avj.12791](https://doi.org/10.1111/avj.12791).
- HATTUM, Hans et FRITON, Gabriele, 2003. Pharmacokinetics in plasma and milk of benzylpenicillin following repeated intramuscular administration of Mamyzin® (penethamate hydriodide) in lactating cows. In : *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 13 juillet 2003.
- HUGHES, L. A., PINCHBECK, G., CALLABY, R., DAWSON, S., CLEGG, P. et WILLIAMS, N., 2013. Antimicrobial prescribing practice in UK equine veterinary practice: Antimicrobial prescribing practice in UK equine veterinary practice. In : *Equine Veterinary Journal*. mars 2013. Vol. 45, n° 2, pp. 141-147. DOI [10.1111/j.2042-3306.2012.00602.x](https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2012.00602.x).
- JOHNS, I. C. et ADAMS, E.-L., 2015. Trends in antimicrobial resistance in equine bacterial isolates: 1999-2012. In : *Veterinary Record*. mars 2015. Vol. 176, n° 13, pp. 334-334. DOI [10.1136/vr.102708](https://doi.org/10.1136/vr.102708).

- KATZUNG, B. G., 2018. Basic and clinical pharmacology. 14th edition. In : [en ligne]. 2018. [Consulté le 17 mai 2021]. Disponible à l'adresse : <http://alex.vetagro-sup.fr/Record.htm?idlist=4&record=19442443124912606259>.
- KENNETH, SULLINS, MESSER et LARRY NELSON, 1984. Serum concentration of penicillin in the horse after repeated intramuscular injections of procaine penicillin G alone or in combination with benzathine penicillin and/or phenylbutazone. In : . American Journal of Veterinary Research, 1984.
- KNOTTENBELT, Derek C, MALALANA, Fernando, et ELSEVIER, 2015. *Saunders equine formulary* [en ligne]. Oxford : Saunders. [Consulté le 19 décembre 2019]. Disponible à l'adresse : <http://VH7QX3XE2P.search.serialssolutions.com/?V=1.0&L=VH7QX3XE2P&S=JCs&C=TC0001485199&T=marc&tab=BOOKS>.
- LABAUNE JEAN-PIERRE, 1988. *Pharmacocinétique: principes fondamentaux*. 2e éd. révisée et augmentée. Paris Milan Barcelone : Masson. ISBN 978-2-225-81104-3. 333191, T.03.00-LAB-P
- LEFEBVRE, Hp, LAROUTE, V, BRAUN, Jp, LASSOURD, V et TOUTAIN, Pl, [sans date]. Non-invasive and quantitative evaluation of post-injection muscle damage by pharmacokinetic analysis of creatine kinase release. In : . pp. 20.
- LÉON, Albertine, CASTAGNET, Sophie, MAILLARD, Karine, PAILLOT, Romain et GIARD, Jean-Christophe, 2020. Evolution of In Vitro Antimicrobial Susceptibility of Equine Clinical Isolates in France between 2016 and 2019. In : *Animals : an Open Access Journal from MDPI* [en ligne]. 7 mai 2020. Vol. 10, n° 5. [Consulté le 17 mai 2021]. DOI 10.3390/ani10050812. Disponible à l'adresse : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7278474/>.
- LOVE, Daria N., ROSE, R. J., MARTIN, I. C. A. et BAILEY, Marilyn, 1983. Serum concentrations of penicillin in the horse after administration of a variety of penicillin preparations. In : *Equine Veterinary Journal*. janvier 1983. Vol. 15, n° 1, pp. 43-48. DOI 10.1111/j.2042-3306.1983.tb01700.x.
- MADDOX, T. W., CLEGG, P. D., WILLIAMS, N. J. et PINCHBECK, G. L., 2015. Antimicrobial resistance in bacteria from horses: Epidemiology of antimicrobial resistance. In : *Equine Veterinary Journal*. novembre 2015. Vol. 47, n° 6, pp. 756-765. DOI 10.1111/evj.12471.
- MALO, Annie, CLUZEL, Caroline, LABRECQUE, Olivia, BEAUCHAMP, Guy, LAVOIE, Jean-Pierre et LECLERE, Mathilde, 2016. Evolution of in vitro antimicrobial resistance in an equine hospital over 3 decades. In : *The Canadian Veterinary Journal*. juillet 2016. Vol. 57, n° 7, pp. 747-751.
- MAURIN EMMANUEL, 2017. *Guide pratique de médecine équine*. 3e éd. Paris : Éditions Med'com. Guide pratique. ISBN 978-2-35403-248-7. S.01.05-MAU-G
- MCKELLAR, Q. A., SANCHEZ BRUNI, S. F. et JONES, D. G., 2004. Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of antimicrobial drugs used in veterinary medicine. In : *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. décembre 2004. Vol. 27, n° 6, pp. 503-514. DOI 10.1111/j.1365-2885.2004.00603.x.
- MED'VET, 2017. *Résumé des Caractéristiques du Produit- Pénétavet*. 2017. S.I. : s.n.
- MEYER, S., GIGUÈRE, S., RODRIGUEZ, R., ZIELINSKI, R. J., GROVER, G. S. et BROWN, S. A., 2009. Pharmacokinetics of intravenous ceftiofur sodium and concentration in body fluids of foals. In : *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 2009. Vol. 32, n° 4, pp. 309-316. DOI <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2008.01041.x>.

MIAGKOFF, Ludovic, ARCHAMBAULT, Marie et BONILLA, Alvaro G., 2020. Antimicrobial susceptibility patterns of bacterial isolates cultured from synovial fluid samples from horses with suspected septic synovitis: 108 cases (2008-2017). In : *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1 avril 2020. Vol. 256, n° 7, pp. 800-807. DOI 10.2460/javma.256.7.800.

MOUTON, J.W., BROWN, D.F.J., APFALTER, P., CANTÓN, R., GISKE, C.G., IVANOVA, M., MACGOWAN, A.P., RODLOFF, A., SOUSSY, C.-J., STEINBAKK, M. et KAHLMETER, G., 2012. The role of pharmacokinetics/pharmacodynamics in setting clinical MIC breakpoints: the EUCAST approach. In : *Clinical Microbiology and Infection*. mars 2012. Vol. 18, n° 3, pp. E37-E45. DOI 10.1111/j.1469-0691.2011.03752.x.

OLSÉN, L., INGVAST-LARSSON, C., BROSTRÖM, H., LARSSON, P. et TJÄLVE, H., 2007. Clinical signs and etiology of adverse reactions to procaine benzylpenicillin and sodium/potassium benzylpenicillin in horses. In : *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. juin 2007. Vol. 30, n° 3, pp. 201-207. DOI 10.1111/j.1365-2885.2007.00851.x.

OLSÉN, Lena, BREMER, Hanna, OLOFSSON, Karin, BRÖJER, Johan, BONDESSON, Ulf, BERGH, Anna, NOSTELL, Katarina, BROSTRÖM, Hans, BENGTSOON, Björn et INGVAST-LARSSON, Carina, 2013. Intramuscular administration of sodium benzylpenicillin in horses as an alternative to procaine benzylpenicillin. In : *Research in Veterinary Science*. août 2013. Vol. 95, n° 1, pp. 212-218. DOI 10.1016/j.rvsc.2013.01.019.

PAPICH, Mark G., 2014. Pharmacokinetic–pharmacodynamic (PK–PD) modeling and the rational selection of dosage regimes for the prudent use of antimicrobial drugs. In : *Veterinary Microbiology*. 16 juillet 2014. Vol. 171, n° 3, pp. 480-486. DOI 10.1016/j.vetmic.2013.12.021.

PLUMB, Donald C., 2018. *Plumb's veterinary drug handbook*. 9e édition. Stockholm, Wisconsin : Pharma Vet Inc. ISBN 978-1-119-34445-2. U.01.04-PLU-V

REED S. M, BAYLY W. M, et SELTON D. C, 2004. *Equine internal medicine. 2nd Edition*. 2nd Edition. London [gbr : WBSaunders Company. ISBN 978-0-7216-9777-2. S.01.05-REE-E

REED, Stephen M., BAYLY, Warwick M. et SELTON, Debra C. (éd.), 2018. *Equine internal medicine*. Fourth edition. St. Louis, Missouri : Elsevier. ISBN 978-0-323-44329-6.

REID, Katherine, ROGERS, Chris W., GRONQVIST, Gabriella, GEE, Erica K. et BOLWELL, Charlotte F., 2017. Anxiety and pain in horses measured by heart rate variability and behavior. In : *Journal of Veterinary Behavior*. 1 novembre 2017. Vol. 22, pp. 1-6. DOI 10.1016/j.jveb.2017.09.002.

RIVIERE JIM E et PAPICH MARK G, 2009. *Veterinary, pharmacology and therapeutics*. 9th ed. Ames, Iowa : Wiley-Blackwell. ISBN 978-0-8138-2061-3. T.04.00-RIV-V

RIVIERE, Jim Edmond, 2011. *Comparative pharmacokinetics: principles, techniques, and applications*. 2nd ed. Chichester, West Sussex : Wiley-Blackwell. ISBN 978-0-8138-2993-7.

STOVER, S. M., BROWN, M. P., KELLY, R. H., FARVER, T. B. et KNIGHT, H. D., 1981. Aqueous procaine penicillin G in the horse: serum, synovial, peritoneal, and urine concentrations after single-dose intramuscular administration. In : *American Journal of Veterinary Research*. avril 1981. Vol. 42, n° 4, pp. 629-631.

TOUTAIN, Pierre-Louis, 2012. Paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques: ce que tout praticien doit savoir. In : . 2012. pp. 5.

TOUTAIN, P.L, DEL CASTILLO, J.R.E et BOUSQUET-MÉLOU, A, 2002. The pharmacokinetic–pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics. In : *Research in Veterinary Science*. octobre 2002. Vol. 73, n° 2, pp. 105-114. DOI 10.1016/S0034-5288(02)00039-5.

TOUTAIN, P.L., LASSOURD, V., COSTES, G., ALVINERIE, M., BRET, L., LEFEBVRE, H.P. et BRAUN, J.P., 1995. A non-invasive and quantitative method for the study of tissue injury caused by intramuscular injection of drugs in horses. In : *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. juin 1995. Vol. 18, n° 3, pp. 226-235. DOI 10.1111/j.1365-2885.1995.tb00583.x.

UBOH, Cornelius E., SOMA, Lawrence R., LUO, Yi, MCNAMARA, Elizabeth, FENNELL, Mary A., MAY, Laura, TELEIS, Donna C., RUDY, Jeffrey A. et WATSON, Anthony O., 2000. Pharmacokinetics of penicillin G procaine versus penicillin G potassium and procaine hydrochloride in horses. In : *American Journal of Veterinary Research*. juillet 2000. Vol. 61, n° 7, pp. 811-815. DOI 10.2460/ajvr.2000.61.811.

VAN LOON, J. P. A. M. et VAN DIERENDONCK, M. C., 2018. Objective pain assessment in horses (2014–2018). In : *The Veterinary Journal*. 1 décembre 2018. Vol. 242, pp. 1-7. DOI 10.1016/j.tvjl.2018.10.001.

WAGNER, Ann E., 2010. Effects of Stress on Pain in Horses and Incorporating Pain Scales for Equine Practice. In : *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. décembre 2010. Vol. 26, n° 3, pp. 481-492. DOI 10.1016/j.cveq.2010.07.001.

WEESE, J. Scott, BAPTISTE, Keith Edward, BAVERUD, Viveca et TOUTAIN, Pierre-Louis, 2008. Guidelines for Antimicrobial Use in Horses. In : GUARDABASSI, Luca, JENSEN, Lars B. et KRUSE, Hilde (éd.), *Guide to Antimicrobial Use in Animals* [en ligne]. 1. S.l. : Wiley. pp. 161-182. [Consulté le 12 juin 2021]. ISBN 978-1-4051-5079-8. Disponible à l'adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781444302639.ch10>.

WILSON, W David, 2001. Rational Selection of Antimicrobials for Use in Horses. In : . 2001. pp. 20.

YOUNKIN, Jarrod T., SANTSCHI, Elizabeth M., KUKANICH, Butch, LUBBERS, Brian V. et WARNER, Matthew, 2019. Evaluation of plasma concentration after intravenous and intramuscular penicillin administration over 24 hr in healthy adult horses. In : *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. mars 2019. Vol. 42, n° 2, pp. 239-242. DOI 10.1111/jvp.12730.

ANNEXES

Annexe 1 : Grille d'évaluation de la douleur

Paramètre à évaluer	Description	Score
Fréquence cardiaque	Identique ou <10% FC examen initial	0
	Augmentation légère (11-30%)	1
	Augmentation modérée (30-50%)	2
	Augmentation marquée (>50%)	3
Fréquence respiratoire	Identique ou <10% FC examen initial	0
	Augmentation légère (11-30%)	1
	Augmentation modérée (30-50%)	2
	Augmentation marquée (>50%)	3
Bruits digestifs	Normale	0
	Diminuée	1
	Absente – Hypermotilité	2
Réponse à la palpation de la zone douloureuse	Aucune réaction à la palpation	0
	Peu de réaction à la palpation	1
	Résiste à la palpation	2
	Réaction violente à la palpation	3
Expression faciale et Position tête/encolure	Cheval relaxé et attentif	0. 
	Expression faciale de douleur, oreilles en position asymétrique	1 
	Expression faciale de douleur marquée, oreilles en arrière	2 
Posture	Se tient tranquille, démarche normale	0
	Transfert de poids occasionnel, légers tremblements musculaires	1
		2

	<p>Ne se tient pas, distribution anormale de poids</p> <p>Posture antalgique (tentatives d'uriner, prostration, tremblements musculaires)</p>	3										
Comportement d'interaction	<p>Fait attention aux gens</p> <p>Réponse exagérée à des stimuli auditifs</p> <p>Réaction excessive voire agressive à des stimuli auditifs</p> <p>Stupeur, prostration, absence de réponse à des stimuli auditifs</p>	<p>0</p> <p>1</p> <p>2</p> <p>3</p>										
Boiterie	<p>Grading des boiteries /5</p> <table border="1"> <tr> <td>Degré 1/5</td> <td>Boiterie difficile à observer, inconstante selon les circonstances (cercle, dureté du sol, relief...)</td> </tr> <tr> <td>2/5</td> <td>Boiterie difficile à observer mais constante. Devient significative selon les circonstances (cercle, dureté du sol, relief...)</td> </tr> <tr> <td>3/5</td> <td>Boiterie constante quelles que soient les circonstances</td> </tr> <tr> <td>4/5</td> <td>Boiterie évidente avec balancement de l'encolure, fautes d'allure, allures raccourcies</td> </tr> <tr> <td>5/5</td> <td>Suppression d'appui au repos et difficultés à se déplacer</td> </tr> </table>	Degré 1/5	Boiterie difficile à observer, inconstante selon les circonstances (cercle, dureté du sol, relief...)	2/5	Boiterie difficile à observer mais constante. Devient significative selon les circonstances (cercle, dureté du sol, relief...)	3/5	Boiterie constante quelles que soient les circonstances	4/5	Boiterie évidente avec balancement de l'encolure, fautes d'allure, allures raccourcies	5/5	Suppression d'appui au repos et difficultés à se déplacer	<p>0 si pas de différence /T0</p> <p>1 si un grade de différence /T0</p> <p>2 si plus d'un grade de différence/T0</p>
Degré 1/5	Boiterie difficile à observer, inconstante selon les circonstances (cercle, dureté du sol, relief...)											
2/5	Boiterie difficile à observer mais constante. Devient significative selon les circonstances (cercle, dureté du sol, relief...)											
3/5	Boiterie constante quelles que soient les circonstances											
4/5	Boiterie évidente avec balancement de l'encolure, fautes d'allure, allures raccourcies											
5/5	Suppression d'appui au repos et difficultés à se déplacer											
TOTAL		/21										

Annexe 2 : Planning détaillé phase I

		CV 1	CV 3	CV 5	CV 2	CV 4	CV 6			
		Usky	Léridano	Uzès	Emma	Doris	Déesse			
Sem 1										
Ma	02-avr	Acclimatation chevaux						Fèces J-6	EC	
Je	04-avr	Acclimatation chevaux						Fèces J-4	Pesée	
Sem 2		Dépo 1	Duplo 1	Péné 1	Dépo 2	Duplo 2	Péné 2			
Lu	08-avr	07:00	07:02	07:04	07:06	07:08	07:10	Plasma T0	EC + EI	
		07:30	07:40	07:50	08:00	08:10	08:20	IM		
		07:45	07:55	08:05	08:15	08:25	08:35	Plasma T0,25		
		08:00	08:10	08:20	08:30	08:40	08:50	Plasma T0,5		
		08:15	08:25	08:35	08:45	08:55	09:05	Plasma T0,75		
		08:30	08:40	08:50	09:00	09:10	09:20	Plasma T1		
		09:30	09:40	09:50	10:00	10:10	10:20	Plasma T2		
		10:30	10:40	10:50	11:00	11:10	11:20	Plasma T3		
		11:30	11:40	11:50	12:00	12:10	12:20	Plasma T4		
		13:30	13:40	13:50	14:00	14:10	14:20	Plasma T6	EI	
								Fèces J1		
		15:30	15:40	15:50	16:00	16:10	16:20	Plasma T8		
		19:30	19:40	19:50	20:00	20:10	20:20	Plasma T12	EC + EI	
Ma	09-avr	07:00	07:10	07:20	07:30	07:40	07:50	Plasma T23,5	EC + EI	
		07:30	Non	07:50	08:30	Non	08:20	IM		
		08:00	08:10	08:20	08:30	08:40	08:50	Plasma T0,5		
		08:30	08:40	08:50	09:00	09:10	09:20	Plasma T1		
		09:30	09:40	09:50	10:00	10:10	10:20	Plasma T2		
								Fèces J2	EI	
		19:30	19:40	19:50	20:00	20:10	20:20	Plasma T12	EC + EI	
Me	10-avr	07:00	07:10	07:20	07:30	07:40	07:50	Plasma T23,5	EC + EI	
		07:30	07:40	07:50	08:00	08:10	08:20	IM		
		08:00	08:10	08:20	08:30	08:40	08:50	Plasma T0,5		
		08:30	08:40	08:50	09:00	09:10	09:20	Plasma T1		
		09:30	09:40	09:50	10:00	10:10	10:20	Plasma T2		
								Fèces J3	EI	
		19:30	19:40	19:50	20:00	20:10	20:20	Plasma T12	EC + EI	
Je	11-avr	07:00	07:10	07:20	07:30	07:40	07:50	Plasma J4	EC + EI	
								Fèces J4	Retour au pré	
Ve	12-avr	07:00	07:10	07:20	07:30	07:40	07:50	Plasma J5	EC + EI	
								Fèces J5		

Sa	13-avr	07:00	07:10	07:20	07:30	07:40	07:50	Plasma J6	EC + EI
								Fèces J6	
Sem 3	19-avr	Ven						Fèces J12	EC
Sem 5	29-avr	Lun						Fèces J22	EC
Sem 8	17-mai	Ven						Fèces J40	EC
Sem 14	16-oct	Lun : début des injections phase II						Fèces 5 mois	

Annexe 3 : Détail des administrations pour la phase 1

Nom déposé	Date	Cheval	Poids du cheval (kg)	Dose théorique	Concentration du produit	Volume à administrer	Site d'injection	Observations	Dose réellement injectée
Dépocilline	08-avr-19	Usky (CV 1)	521	10 mg/kg	170 mg/mL	30,6mL	Fesse droite	/	10 mg/kg
	09-avr-19						Fesse gauche	/	10 mg/kg
	10-avr-19						Fesse droite	/	10 mg/kg
	08-avr-19	Emma (CV 2)	450			26,5mL	Fesse droite	/	10 mg/kg
	09-avr-19						Fesse gauche	/	10 mg/kg
	10-avr-19						Fesse droite	/	10 mg/kg
Duplocilline	08-avr-19	Léridano (CV 3)	456	12,4 mg/kg	177,1 mg/mL	31,9mL	Fesse droite	Perte de 3mL	11,2 mg/kg
	10-avr-19						Fesse gauche	/	12,4 mg/kg
	08-avr-19	Doris (CV 4)	539			37,7mL	Fesse droite	/	12,4 mg/kg
	10-avr-19						Fesse gauche	/	12,4 mg/kg
Pénétavet	08-avr-19	Uzès (CV 5)	538	7,72g le premier jour et 3,86g les deux suivants	3,86g / flacon de 15mL	30mL	Fesse droite	/	7,72g
	09-avr-19					15mL	Fesse gauche	/	3,86g
	10-avr-19					15mL	Fesse droite	/	3,86g
	08-avr-19	Déesse (CV 6)	511			30mL	Fesse droite	/	7,72g
	09-avr-19					15mL	Fesse gauche	/	3,86g
	10-avr-19					15mL	Fesse droite	/	3,86g

Annexe 4 : Planning détaillé phase 2

		Cv1	Cv2	Cv3	Cv4	Cv5	Cv6			
		Usky	Emma	Leridano	Doris	Uzes	Déesse			
Sem 1										
Me	11-sept	Acclimatation chevaux					Fèces J-3		Examen clinique (EC)/Pesée	
Ve	13-sept	Acclimatation chevaux					Fèces J-5			
Sem 2		Péné 1	Péné 2	Dépo 1	Dépo 2	Dupl 1	Dupl 2			
Lu	16-sept	07:30:00	07:32:00	07:34:00	07:36:00	07:38:00	07:40:00	Plasma T0	EC + éval injection	
		08:00:00	08:10:00	08:20:00	08:30:00	08:40:00	08:50:00	IM		
		08:15:00	08:25:00	08:35:00	08:45:00	08:55:00	09:05:00	Plasma T0,25		
		08:30:00	08:40:00	08:50:00	09:00:00	09:10:00	09:20:00	Plasma T0,5		
		08:45:00	08:55:00	09:05:00	09:15:00	09:25:00	09:35:00	Plasma T0,75		
		09:00:00	09:10:00	09:20:00	09:30:00	09:40:00	09:50:00	Plasma T1		
		10:00:00	10:10:00	10:20:00	10:30:00	10:40:00	10:50:00	Plasma T2		
		11:00:00	11:10:00	11:20:00	11:30:00	11:40:00	11:50:00	Plasma T3		
		12:00:00	12:10:00	12:20:00	12:30:00	12:40:00	12:50:00	Plasma T4		
		14:00:00	14:10:00	14:20:00	14:30:00	14:40:00	14:50:00	Plasma T6	éval injection	
		Fèces J1								
		16:00:00	16:10:00	16:20:00	16:30:00	16:40:00	16:50:00	Plasma T8		
		20:00:00	20:10:00	20:20:00	20:30:00	20:40:00	20:50:00	Plasma T12	EC + éval injection	
Ma	17-sept	07:30:00	07:40:00	07:50:00	08:00:00	08:10:00	08:20:00	Plasma T23,5	EC + éval injection	
		08:00:00	Non	08:20:00	08:30:00	Non	08:50:00	IM		
		08:30:00	08:40:00	08:50:00	09:00:00	09:10:00	09:20:00	Plasma T0,5		
		09:00:00	09:10:00	09:20:00	09:30:00	09:40:00	09:50:00	Plasma T1		
		10:00:00	10:10:00	10:20:00	10:30:00	10:40:00	10:50:00	Plasma T2		
		Fèces J2							éval injection	
		20:00:00	20:10:00	20:20:00	20:30:00	20:40:00	20:50:00	Plasma T12	EC + éval injection	
Me	18-sept	07:30:00	07:40:00	07:50:00	08:00:00	08:10:00	08:20:00	Plasma T23,5	EC + éval injection	
		08:00:00	08:10:00	08:20:00	08:30:00	08:40:00	08:50:00	IM		
		08:30:00	08:40:00	08:50:00	09:00:00	09:10:00	09:20:00	Plasma T0,5		
		09:00:00	09:10:00	09:20:00	09:30:00	09:40:00	09:50:00	Plasma T1		
		10:00:00	10:10:00	10:20:00	10:30:00	10:40:00	10:50:00	Plasma T2		
		Fèces J3							éval injection	
		20:00:00	20:10:00	20:20:00	20:30:00	20:40:00	20:50:00	Plasma T12	EC + éval injection	
Je	19-sept	07:30:00	07:40:00	07:50:00	08:00:00	08:10:00	08:20:00	Plasma J4	EC + éval injection	
		Fèces J4								
Ve	20-sept	07:30:00	07:40:00	07:50:00	08:00:00	08:10:00	08:20:00	Plasma J5	EC + éval injection	
		Fèces J5								
Sa	21-sept	07:30:00	07:40:00	07:50:00	08:00:00	08:10:00	08:20:00	Plasma J6	EC + éval injection	
		Fèces J6								
Sem 3	26-sept	Jeu					Fèces J11		EC	
Sem 5		Lun					Fèces J22		EC	
Sem 6		Lun					Fèces J29		EC	
Sem 10		Lun					Fèces J60			

Annexe 5 : Détail administrations phase II

Nom déposé	Date	Cheval	Poids du cheval (kg)	Dose théorique	Concentration du produit	Volume à administrer	Site d'injection	Observations	Dose réellement injectée
Dépocilline	16-sept-19	Léridano (CV 3)	452	10 mg/kg	170 mg/mL	26,6mL	Fesse droite	/	10 mg/kg
	17-sept-19						Fesse gauche	/	10 mg/kg
	18-sept-19						Fesse droite	a un peu bougé	10 mg/kg
	16-sept-19	Doris (CV 4)	585			34,4mL	Fesse droite	/	10 mg/kg
	17-sept-19						Fesse gauche	/	10 mg/kg
	18-sept-19						Fesse droite	a un peu bougé	10 mg/kg
Duplocilline	16-sept-19	Uzès (CV 5)	578	12,4 mg/kg	177,1 mg/mL	40,5mL	Fesse droite	Perte de 1mL	12,1 mg/kg
	18-sept-19						Fesse gauche	a bougé	12,4 mg/kg
	16-sept-19	Déesse (CV 6)	560			39,2mL	Fesse droite	/	12,4 mg/kg
	18-sept-19						Fesse gauche	Perte de 4 gouttes (0,2mL)	12,3 mg/kg
Pénétavet	16-sept-19	Usky (CV 1)	540	7,72g le premier jour et 3,86g les deux suivants	3,86g / flacon de 15mL	30mL	Fesse droite	a bougé	7,72g
	17-sept-19					15mL	Fesse gauche	/	3,86g
	18-sept-19					15mL	Fesse droite	a un peu bougé	3,86g
	16-sept-19	Emma (CV 2)	500			30mL	Fesse droite	/	7,72g
	17-sept-19					15mL	Fesse gauche	/	3,86g
	18-sept-19					15mL	Fesse droite	/	3,86g

Annexe 6 : Planning détaillé phase III

		CV 1	CV 2	CV 3	CV 4	CV 5	CV 6				
		Usky	Emma	Leridano	Doris	Uzes	Déesse				
Sem 1											
Me	15-janv	Acclimatation chevaux						Fèces J-3	EC + Pesée		
Ve	17-janv	Acclimatation chevaux						Fèces J-5			
Sem 2		Duplo 1	Duplo 2	Péné 1	Péné 2	Dépo 1	Dépo 2				
Lu	20-janv	07:30:00	07:32:00	07:34:00	07:36:00	07:38:00	07:40:00	Plasma T0	EC + EI		
		08:00:00	08:10:00	08:20:00	08:30:00	08:40:00	08:50:00	IM			
		08:15:00	08:25:00	08:35:00	08:45:00	08:55:00	09:05:00	Plasma T0,25			
		08:30:00	08:40:00	08:50:00	09:00:00	09:10:00	09:20:00	Plasma T0,5			
		08:45:00	08:55:00	09:05:00	09:15:00	09:25:00	09:35:00	Plasma T0,75	Mesure annulée		
		09:00:00	09:10:00	09:20:00	09:30:00	09:40:00	09:50:00	Plasma T1			
		10:00:00	10:10:00	10:20:00	10:30:00	10:40:00	10:50:00	Plasma T2			
		11:00:00	11:10:00	11:20:00	11:30:00	11:40:00	11:50:00	Plasma T3	Mesure annulée		
		12:00:00	12:10:00	12:20:00	12:30:00	12:40:00	12:50:00	Plasma T4			
		14:00:00	14:10:00	14:20:00	14:30:00	14:40:00	14:50:00	Plasma T6	EI		
									Fèces J1		
		16:00:00	16:10:00	16:20:00	16:30:00	16:40:00	16:50:00	Plasma T8			
		20:00:00	20:10:00	20:20:00	20:30:00	20:40:00	20:50:00	Plasma T12	EC + EI		
Ma	21-janv	07:30:00	07:40:00	07:50:00	08:00:00	08:10:00	08:20:00	Plasma T23,5	EC + EI		
		Non	Non	08:20:00	08:30:00	08:40:00	08:50:00	IM			
		08:30:00	08:40:00	08:50:00	09:00:00	09:10:00	09:20:00	Plasma T0,5			
		09:00:00	09:10:00	09:20:00	09:30:00	09:40:00	09:50:00	Plasma T1			
		10:00:00	10:10:00	10:20:00	10:30:00	10:40:00	10:50:00	Plasma T2			
									Fèces J2	EI	
		16:00:00	16:10:00	16:20:00	16:30:00	16:40:00	16:50:00	Plasma T8	EC + EI		
Me	22-janv	07:30:00	07:40:00	07:50:00	08:00:00	08:10:00	08:20:00	Plasma T23,5	EC + EI		
		08:00:00	08:10:00	08:20:00	08:30:00	08:40:00	08:50:00	IM			
		08:30:00	08:40:00	08:50:00	09:00:00	09:10:00	09:20:00	Plasma T0,5			
		09:00:00	09:10:00	09:20:00	09:30:00	09:40:00	09:50:00	Plasma T1			
		10:00:00	10:10:00	10:20:00	10:30:00	10:40:00	10:50:00	Plasma T2			
									Fèces J3	EI	
		16:00:00	16:10:00	16:20:00	16:30:00	16:40:00	16:50:00	Plasma T8	EC + EI		
Je	23-janv	07:30:00	07:40:00	07:50:00	08:00:00	08:10:00	08:20:00	Plasma J4	EC + EI		
									Fèces J4	Retour au pré	
				16:20:00	16:30:00				Plasma J4 bis 8-12h	Ajout mesure	
Ve	24-janv	07:30:00	07:40:00	07:50:00	08:00:00	08:10:00	08:20:00	Plasma J5	EC + EI		
									Fèces J5		
Sa	25-janv	07:30:00	07:40:00	07:50:00	08:00:00	08:10:00	08:20:00	Plasma J6	EC + EI		

			Fèces J6	
Sem 3	30-janv	Jeu	Fèces J11	EC
Sem 5	11-févr	Mar	Fèces J23	EC
Sem 7	26-févr	Jeu	Fèces J38	EC
	25-mai	Lun	Fèces 4 mois	(J127)

Annexe 7 : Détail administration phase III

Nom déposé	Date	Cheval	Poids du cheval (kg)	Dose théorique	Concentration du produit	Volume à administrer	Site d'injection	Observations	Dose réellement injectée
Dépocilline	20-janv-20	Uzès (CV 5)	536	10 mg/kg	170 mg/mL	31,5mL	Fesse droite	/	10 mg/kg
	21-janv-20						Fesse gauche	/	10 mg/kg
	22-janv-20						Fesse droite	sang => changement d'aiguille avant injection	10 mg/kg
	20-janv-20	Déesse (CV 6)	540			31,8mL	Fesse droite	Perte de 4mL	8,7 mg/kg
	21-févr-20						Fesse gauche	Perte de 1mL	9,7 mg/kg
	22-janv-20						Fesse droite	/	10 mg/kg
Duplocilline	20-janv-20	Usky (CV 1)	500	12,4 mg/kg	177,1 mg/mL	35mL	Fesse droite	/	12,4 mg/kg
	22-janv-20						Fesse gauche	sang => changement d'aiguille avant injection	12,4 mg/kg
	20-janv-20	Emma (CV 2)	482			33,7mL	Fesse droite	/	12,4 mg/kg
	22-janv-20						Fesse gauche	/	12,4 mg/kg
Pénétavet	20-janv-20	Léridano (CV 3)	423	7,72g le premier jour et 3,86g les deux suivants	3,86g / flacon de 15mL	30mL	Fesse droite	/	7,72g
	21-janv-20					15mL	Fesse gauche	/	3,86g
	22-janv-20					15mL	Fesse droite	/	3,86g
	20-janv-20	Doris (CV 4)	570			30mL	Fesse droite	/	7,72g
	21-janv-20					15mL	Fesse gauche	/	3,86g
	22-janv-20					15mL	Fesse droite	/	3,86g

Annexe 8 : Plan des boxs et du local d'expérimentation



TOULOUSE 2021,

CHAPUIS Laura

TITRE : Détermination des paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques des 3 formulations commerciales de pénicilline G afin d'optimiser le traitement antibiotique de première intention chez le cheval.

Mots clefs : pénicilline, pharmacocinétique, pharmacodynamie, cheval

RESUME :

La lutte contre les résistances aux antibiotiques est un véritable enjeu en médecine vétérinaire et humaine. Il semble donc important de revoir les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de certains agents antimicrobiens largement utilisés. La pénicilline G fait partie des antibiotiques de premières lignes prescrits par les vétérinaires équins.

Une première partie de ce travail est consacrée aux principes de la pharmacocinétique et de la pharmacodynamie et plus spécifiquement aux paramètres de la pénicilline G. Un état des lieux des pathogènes rencontrés les plus fréquemment chez le cheval ainsi que leur sensibilité à la pénicilline G a ensuite été réalisé. Dans une seconde partie, une étude expérimentale pharmacocinétique (PK) et pharmacodynamique (PD) réalisée sur six chevaux sains à partir des 3 formulations commerciales de pénicilline G qui sont la Dépocilline®, la Duplocilline® et le Pénétavet® est détaillée.

Cette étude a permis d'établir les paramètres pharmacocinétiques des 3 formes de pénicilline avec AMM en France. Les posologies des molécules utilisées dans notre étude sont celles des AMM, inférieures à celles préconisées par des publications scientifiques. Notre étude a permis d'établir que les doses mentionnées dans les AMM peuvent permettre d'atteindre des concentrations plasmatiques en pénicilline G suffisantes pour certains pathogènes mais insuffisantes pour d'autres. Afin de pouvoir faire des recommandations cliniques thérapeutiques pertinentes, il est nécessaire de pouvoir déterminer les CMI des pathogènes issus du cheval en Europe ou en France ; ces données étant inconnues pour l'instant, elles feront l'objet de nouveaux travaux de recherche.

TITLE: Determination of the pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters of the 3 commercial formulations of penicillin G to optimize the first-line antibiotic treatment in horses.

Keywords: penicillin, pharmacokinetic, pharmacodynamic, horse

ABSTRACT:

The fight against antibiotic resistance is a real issue in veterinary and human medicine. It seems important to review the pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of certain widely used antimicrobial agents. Penicillin G is one of the first line antibiotics prescribed by equine veterinarians.

A first part of this work is devoted to the principles of pharmacokinetics and pharmacodynamics and especially to the parameters of penicillin G. An inventory of the pathogens most frequently encountered in horses as well as their sensitivity to penicillin G was carry out. In a second part, an experimental pharmacokinetic (PK) and pharmacodynamic (PD) study performed on six healthy horses using the 3 commercial formulations of penicillin G which are Depocillin®, Duplocillin® and Penetavet® is detailed.

This study made it possible to establish the pharmacokinetic parameters of the 3 forms of penicillin with Marketing Authorization (MA) in France.

The dosages of the molecules used in our study are those of the MAs, lower than those recommended by scientific publications. Our study enables to establish that the doses mentioned in the MAs led to penicillin G plasma concentrations sufficient for certain pathogens but insufficient for others. In order to be able to make relevant clinical therapeutic recommendations, it is necessary to be able to determine the MICs of pathogens from horses in Europe or in France; as these data are unknown at this time, they will be the subject of further research.