



**HAL**  
open science

# Triméthoprimé et sulfadoxine : pharmacodynamique et pharmacocinétique dans le cadre de la lutte anti-dopage chez le cheval

Cyrielle Triboulloy

## ► To cite this version:

Cyrielle Triboulloy. Triméthoprimé et sulfadoxine : pharmacodynamique et pharmacocinétique dans le cadre de la lutte anti-dopage chez le cheval. Médecine vétérinaire et santé animale. 2024. dumas-04546405

**HAL Id: dumas-04546405**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04546405>**

Submitted on 15 Apr 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.

# TRIMETHOPRIME ET SULFADOXINE : PHARMACODYNAMIQUE ET PHARMACOCINETIQUE DANS LE CADRE DE LA LUTTE ANTI-DOPAGE CHEZ LE CHEVAL

---

THESE D'EXERCICE

pour obtenir le titre de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

*par*

**TRIBOULLOY Cyrielle, Caroline**

**Directrice de thèse : Mme Aude FERRAN**

---

**JURY**

PRESIDENT :

**M. Alain BOUSQUET-MELOU**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ASSESEURES :

**Mme Aude FERRAN**

**Mme Elodie LALLEMAND**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE



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

**Liste des directeurs/assesseurs de thèse de doctorat vétérinaire**

**Directeur : Professeur Pierre SANS**

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie, thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et industrie des aliments d'origine animale*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, statistiques, modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la reproduction, endocrinologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie médicale animale et comparée*

**PROFESSEURS 1<sup>ère</sup> CLASSE**

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, anatomie pathologique*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootchnie*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- 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*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*

**PROFESSEURS 2<sup>ème</sup> CLASSE**

- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, imagerie médicale*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et infectiologie*

## **MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE**

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la reproduction*  
Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale*  
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*  
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et mathématiques*  
Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*  
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

## **MAITRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE**

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **BRET Lydie**, *Physique et chimie biologiques et médicales*  
Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*  
M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie, imagerie médicale*  
M. **COMBARROS Daniel**, *Dermatologie vétérinaire*  
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*  
Mme

# **REMERCIEMENTS**

**À mon Président de thèse,**

**Monsieur le Professeur Alain BOUSQUET-MELOU**

De l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury de thèse, veuillez trouver ici l'expression de mes remerciements et de mon profond respect.

**À ma Directrice de thèse,**

**Madame la Maître de conférences Aude FERRAN**

De l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Pour avoir accepté de m'encadrer dans ce travail avec beaucoup de bienveillance et de disponibilité,

Veillez accepter l'expression de ma sincère gratitude.

**À mon Assesseure de thèse,**

**Madame la Professeure Élodie LALLEMAND**

Pour m'avoir fait l'honneur de participer au jury de ma thèse,

Veillez accepter l'expression de mes sincères remerciements.



# Table des matières

<b>LISTE DES FIGURES</b>	<b>5</b>
<b>LISTE DES GRAPHIQUES</b>	<b>7</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX</b>	<b>11</b>
<b>LISTE DES ANNEXES</b>	<b>13</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS</b>	<b>15</b>
<b>INTRODUCTION</b>	<b>17</b>
<b>PREMIERE PARTIE : BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>19</b>
1	CONTROLE DES MEDICATIONS DANS LE CADRE DE LA LUTTE ANTI-DOPAGE 19
1.1	<i>L'origine et la définition du mot dopage</i> 19
1.1.1	Origine du mot dopage 19
1.1.2	Définition actuelle et générale du dopage 19
1.2	<i>Les premières formes de dopage : l'Homme et la quête de l'amélioration des performances physiques</i> 19
1.3	<i>Les premiers cas de dopage hippique et les débuts des procédures anti-dopage</i> 20
1.4	<i>La diversification de l'arsenal du dopeur depuis le XXe siècle</i> 21
1.5	<i>De l'évolution des pratiques de dopage à l'évolution des contrôles</i> 22
1.6	<i>Les intérêts et objectifs du dopage dans les courses et sports équestres</i> 23
1.6.1	Intérêts et enjeux financiers 23
1.6.2	Améliorer les performances physiques 24
1.6.3	Réduction de la douleur 25
1.6.4	Réduction du stress 25
1.6.5	Masquer ou diluer les substances dopantes 26
1.7	<i>Le dopage involontaire ou accidentel</i> 26
1.8	<i>Classification des agents dopants</i> 27
2	LES DIFFERENTES STRUCTURES ET REGLEMENTATIONS DE LA LUTTE ANTI-DOPAGE 28
2.1	<i>La législation antidopage en France et son évolution</i> 28
2.2	<i>Nécessité de lutter contre le dopage</i> 30
2.3	<i>Les autorités de la lutte antidopage</i> 31
2.3.1	Les organisations de la lutte contre le dopage dans les courses hippiques 32
2.3.2	Les organisations de la lutte contre le dopage dans les sports équestres 34
2.4	<i>La nouvelle approche européenne et la distinction entre le contrôle antidopage et le contrôle des médicaments</i> 35
2.4.1	Les substances prohibées (Lambolez 2011; Meuly 2019; Barboussat 2007) 35
2.4.2	Les substances spécifiées et non spécifiées 36
2.4.3	Les substances exclues de la liste des substances prohibées 37
2.5	<i>Contrôle de l'exposition et contrôle des médicaments, principe général (Toutain, Lassourd 2002)</i> 37
2.6	<i>Les prélèvements biologiques dans le cadre des contrôles</i> 40
2.7	<i>Les analyses des prélèvements (Lambolez 2011; Meuly 2019)</i> 42
3	TRIMETHOPRIME - SULFADOXINE : UNE ASSOCIATION D'ANTIBIOTIQUES LARGE SPECTRE FREQUEMMENT UTILISEE 44
3.1	<i>L'histoire des sulfamides et du triméthoprim</i> 44
3.2	<i>Propriétés pharmacodynamiques</i> 45
3.2.1	Mécanisme d'action 45
3.2.2	Propriétés chimiques 46
3.3	<i>Propriétés pharmacocinétiques</i> 47
3.3.1	Absorption 47
3.3.2	Distribution 47
3.3.3	Métabolisme (M) 48
3.3.4	Excrétion du principe actif et de ses métabolites 49
3.4	<i>Résistances</i> 50
3.5	<i>Utilisation clinique</i> 51
3.6	<i>Effets indésirables et contre-indications</i> 54

**DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE DES CINETIQUES D'ELIMINATIONS PLASMATIQUE ET URINAIRE DU TRIMETHOPRIME, DE LA SULFADOXINE ET LEURS METABOLITES \_\_\_\_\_ 57**

1	MATERIEL _____	57
1.1	<i>Molécules Testées</i> _____	57
1.2	<i>Produits chimiques</i> _____	58
1.3	<i>Animaux de l'étude expérimentale</i> _____	58
2	METHODE _____	60
2.1	<i>Plan expérimental</i> _____	60
2.2	<i>Prélèvements</i> _____	61
2.3	<i>Analyse des prélèvements</i> _____	62
2.4	<i>Analyse LC-MS/MS</i> _____	63
2.5	<i>Validation de la méthode</i> _____	63
2.6	<i>Analyses des données pharmacocinétiques</i> _____	65
2.6.1	Détermination de la clairance rénale du triméthoprimé et de la sulfadoxine _____	65
2.6.2	Détermination du temps de détection _____	65
2.6.3	Détermination du temps de retrait _____	67
3	RESULTATS _____	69
3.1	<i>Concentration plasmatique de la sulfadoxine, du triméthoprimé et de son principal métabolite le desméthyltriméthoprimé</i> _____	69
3.2	<i>Concentration urinaire de la sulfadoxine, du triméthoprimé et son principale métabolite le desméthyltriméthoprimé</i> _____	80
3.3	<i>Détermination des temps de détection</i> _____	90
3.4	<i>Détermination des temps de retrait</i> _____	97
3.5	<i>Évolution du ratio triméthoprimé/sulfadoxine</i> _____	101
3.5.1	Evolution du ratio triméthoprimé/sulfadoxine dans le plasma après une injection unique _____	102
3.5.2	Evolution du ratio triméthoprimé/sulfadoxine dans les urines après une injection unique _____	104
3.6	<i>Evolution des concentrations du triméthoprimé et de la sulfadoxine par rapport aux CMI des principales bactéries impliquées dans les infections chez le cheval</i> _____	106
3.6.1	Evolution de la concentration plasmatique de la sulfadoxine seule, par rapport aux CMI des principales bactéries impliquées dans les infections chez les chevaux _____	107
3.6.2	Évolution de la concentration plasmatique du triméthoprimé seul, par rapport aux CMI des principales bactéries impliquées dans les infections chez les chevaux _____	109
3.6.3	Évolution de la concentration urinaire de l'association triméthoprimé-sulfadoxine, par rapport aux CMI des principales bactéries impliquées dans les infections chez les chevaux _____	111
3.6.4	Évolution de la concentration urinaire de la sulfadoxine seule, par rapport aux CMI des principales bactéries impliquées dans les infections chez les chevaux _____	111
3.6.5	Évolution de la concentration urinaire du triméthoprimé seul, par rapport aux CMI des principales bactéries impliquées dans les infections chez les chevaux _____	113
	<b>DISCUSSION _____</b>	<b>115</b>
1	PROTOCOLE _____	115
1.1	<i>Les prélèvements</i> _____	115
1.2	<i>Les chevaux de l'étude</i> _____	116
1.3	<i>L'injection de l'antibiotique/suivi du protocole</i> _____	117
2	CINETIQUE D'ELIMINATION _____	118
2.1	<i>Pharmacocinétique des molécules étudiées</i> _____	118
2.2	<i>Le métabolisme du triméthoprimé</i> _____	119
3	ETUDE PRELIMINAIRE SUR L'EFFICACITE DE L'ASSOCIATION SUR LES BACTERIES _____	120
3.1	<i>Le ratio TMP/sulfadoxine</i> _____	120
3.2	<i>L'évolution des concentrations en triméthoprimé et en sulfadoxine par rapport à leur CMI</i> _____	121
4	CALCUL DES TEMPS DE DETECTION _____	122
5	CALCUL DES TEMPS DE RETRAIT _____	123
	<b>CONCLUSION _____</b>	<b>125</b>
	<b>BIBLIOGRAPHIE _____</b>	<b>129</b>





# Liste des figures

Figure 1: Logo de l'Agence Française de Lutte contre le Dopage (AFLD).....	29
Figure 2 : Logo de France Galop.....	32
Figure 3: Logo de la Société du Trotteur Français.....	32
Figure 4: Logo de la "European Horserace Scientific Liaison Committee".....	33
Figure 5: Logo de la "International Federation of Horseracing Authorities".....	33
Figure 6: Kit de prélèvement sanguin et urinaire (Lambolez 2011).....	42
Figure 7: Structure chimique du Protonsil.....	44
Figure 8: Mise en évidence de l'analogie de structure de la sulfanilamide et de l'acide para-aminobenzoïque (PABA).....	45
Figure 9: Antagonistes des folates dans la synthèse de la thymidine.....	45
Figure 10: Structure chimique du Triméthoprim.....	46
Figure 11: Structure chimique de la Sulfadoxine.....	46
Figure 12: Structures chimiques des métabolites primaires du triméthoprim chez l'homme	49
Figure 13: Illustration graphique des paramètres pharmacocinétiques impliqués dans la détermination du temps de détection (avec $\lambda_{dz}$ la pente terminale la concentration au cours du temps) d'après Toutain et Lassourd 2002.....	66



# Liste des graphiques

Graphique 1: Concentrations plasmatiques individuelles de la sulfadoxine au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprim, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg.....	69
Graphique 2: Concentrations plasmatiques moyennes de la sulfadoxine au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprim, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg .....	70
Graphique 3: Concentrations plasmatiques individuelles du triméthoprim au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprim, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg.....	71
Graphique 4: Concentration plasmatique moyenne du triméthoprim au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprim, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg .....	71
Graphique 5: Concentrations plasmatiques individuelles en desméthytriméthoprim au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprim, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg.....	73
Graphique 6: Concentrations plasmatiques individuelles en desméthytriméthoprim sur les quatre premières heures après injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprim, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg .....	73
Graphique 7: Concentration plasmatique moyenne du desméthyltriméthoprim au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprim, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg .....	74
Graphique 8: Concentration plasmatique moyenne de la Sulfadoxine, du Triméthoprim et du Desméthyltriméthoprim au cours du temps après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprim, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg .....	75
Graphique 9: Concentration plasmatique de la Sulfadoxine, du Triméthoprim et du Desméthyltriméthoprim au cours du temps chez Nobel après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprim, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg.....	76
Graphique 10: Concentration plasmatique de la Sulfadoxine, du Triméthoprim et du Desméthyltriméthoprim au cours du temps chez Rêve après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprim, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg.....	77

Graphique 11: Concentration plasmatique de la Sulfadoxine, du Triméthoprimé et du Desméthyltriméthoprimé au cours du temps chez Quashmir après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprimé, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg.....	77
Graphique 12: Concentration plasmatique de la Sulfadoxine, du Triméthoprimé et du Desméthyltriméthoprimé au cours du temps chez Pitou après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprimé, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg.....	78
Graphique 13: Concentration plasmatique de la Sulfadoxine, du Triméthoprimé et du Desméthyltriméthoprimé au cours du temps chez Diedo après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprimé, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg.....	78
Graphique 14: Concentration plasmatique de la Sulfadoxine, du Triméthoprimé et du Desméthyltriméthoprimé au cours du temps chez Phénix après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprimé, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg .....	79
Graphique 15: Concentration plasmatique de la Sulfadoxine, du Triméthoprimé et du Desméthyltriméthoprimé au cours du temps chez Kepresh après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprimé, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg.....	79
Graphique 16: Concentration plasmatique de la Sulfadoxine, du Triméthoprimé et du Desméthyltriméthoprimé au cours du temps chez Leridano après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprimé, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg.....	80
Graphique 17: Concentration urinaire moyenne en sulfadoxine au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprimé, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg .....	81
Graphique 18: Concentrations urinaires individuelles en Sulfadoxine au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprimé, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg .....	81
Graphique 19: Concentrations urinaires individuelles en triméthoprimé au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprimé, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg .....	82
Graphique 20: Concentration urinaire moyenne en triméthoprimé au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprimé, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg .....	82
Graphique 21: Concentrations urinaires individuelles en desméthyltriméthoprimé au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprimé, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg.....	83

Graphique 22: Concentration urinaire moyenne en desméthyltriméthoprime au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg.....	84
Graphique 23: Concentration plasmatique moyenne de la Sulfadoxine, du Triméthoprime et du Desméthyltriméthoprime au cours du temps après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg .....	85
Graphique 24: Concentration urinaire de la Sulfadoxine, du Triméthoprime et du Desméthyltriméthoprime au cours du temps chez Nobel après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg .....	86
Graphique 25: Concentration urinaire de la Sulfadoxine, du Triméthoprime et du Desméthyltriméthoprime au cours du temps chez Reve après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg .....	86
Graphique 26: Concentration urinaire de la Sulfadoxine, du Triméthoprime et du Desméthyltriméthoprime au cours du temps chez Quashmir après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg.....	87
Graphique 27: Concentration urinaire de la Sulfadoxine, du Triméthoprime et du Desméthyltriméthoprime au cours du temps chez Pitou après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg .....	87
Graphique 28: Concentration urinaire de la Sulfadoxine, du Triméthoprime et du Desméthyltriméthoprime au cours du temps chez Diedo après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg .....	88
Graphique 29: Concentration urinaire de la Sulfadoxine, du Triméthoprime et du Desméthyltriméthoprime au cours du temps chez Phénix après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg .....	88
Graphique 30: Concentration urinaire de la Sulfadoxine, du Triméthoprime et du Desméthyltriméthoprime au cours du temps chez Kepresh après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg .....	89
Graphique 31: Concentration urinaire de la Sulfadoxine, du Triméthoprime et du Desméthyltriméthoprime au cours du temps chez Leridano après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg .....	89
Graphique 32: Evolution du ratio TMP/SDX individuel dans le plasma au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (200mg/mL sulfadoxine, 40mg/mL triméthoprime) à 0,07mL/kg .....	102

Graphique 33: Évolution du Ratio TMP/SDX moyen dans le plasma au cours du temps, après une injection unique de Borgal® 24% (200mg/mL sulfadoxine, 40mg/mL triméthoprime) à 0,07mL/kg .....	103
Graphique 34: Évolution du Ratio TMP/SDX individuel dans les urines au cours du temps, après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (200mg/mL sulfadoxine, 40mg/mL triméthoprime) à 0,07mL/kg .....	104
Graphique 35: Évolution du Ratio TMP/SDX moyen dans les urines au cours du temps, après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (200mg/mL sulfadoxine, 40mg/mL triméthoprime) à 0,07mL/kg .....	105
Graphique 36: Evolution de la concentration plasmatique moyenne en sulfadoxine après une injection unique de Borgal® 24% (240mg/mL Sulfaxodine, 40mg/mL Triméthoprime) à 0,07mL/kg, par rapport aux CMI90 des principales bactéries impliquées dans les infections chez le.....	108
Graphique 37: Evolution de la concentration plasmatique moyenne en triméthoprime après une injection unique de Borgal® 24% (240mg/mL Sulfaxodine, 40mg/mL Triméthoprime) à 0,07mL/kg, par rapport aux CMI90 des principales bactéries impliquées dans les infections chez le cheval.....	109
Graphique 38: Evolution de la concentration urinaire moyenne en sulfadoxine après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (240mg/mL Sulfaxodine, 40mg/mL Tirméthoprime) à 0,07mL/kg par rapport aux CMI des principales bactéries impliquées dans les infections chez le cheval.....	112
Graphique 39: Evolution de la concentration urinaire moyenne en triméthoprime après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (240mg/mL Sulfaxodine, 40mg/mL Tirméthoprime) à 0,07mL/kg par rapport aux CMI des principales bactéries impliquées dans les infections chez le cheval.....	113

# Liste des Tableaux

Tableau 1: Comparaison de l'activité du Triméthoprimine pour la dihydrofolate réductase (FH2) chez l'Homme et la bactérie (Rang, Dale 1987).....	46
Tableau 2: Valeurs pharmacocinétiques du Triméthoprimine et des certains sulfamides chez les chevaux (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994).....	48
Tableau 3: Indication d'utilisation de l'association Triméthoprimine-sulfamide chez le cheval selon les affections (Giguère, Prescott, Dowling 2013; Wilson 2001; Mitchell, Furr, McKenzie 2006) .....	52
Tableau 4: Caractéristiques individuelles des 8 chevaux de l'étude.....	59
Tableau 5: Volume de Borgal® administré et doses de triméthoprimine et sulfadoxine correspondantes .....	60
Tableau 6: Récapitulatif des principaux paramètres pharmacocinétiques de la sulfadoxine, du triméthoprimine et du desméthyltriméthoprimine .....	76
Tableau 7: Temps de détection de la sulfadoxine, du triméthoprimine et du desméthyltriméthoprimine dans le plasma et l'urine par lecture graphique selon les limites de quantification (LOQ) .....	90
Tableau 8: Paramètres plasmatiques et urinaires déterminés par le logiciel Pkanalix® pour la sulfadoxine et nécessaires au calcul du temps de détection.....	91
Tableau 9: Paramètres plasmatiques et urinaires déterminés par le logiciel Pkanalix® pour le triméthoprimine et nécessaires au calcul des temps de détection .....	92
Tableau 10: Paramètres plasmatiques et urinaires déterminés par le logiciel Pkanalix® pour le desméthyltriméthoprimine et nécessaires au calcul des temps de détection .....	92
Tableau 11: Temps de détection observés et calculés de la sulfadoxine dans le plasma pour les différentes limites de quantification chez les 8 chevaux de l'étude .....	93
Tableau 12: Temps de détection observés et calculés de la sulfadoxine dans l'urine pour les différentes limites de quantification chez les 8 chevaux de l'étude .....	93
Tableau 13: Temps de détection observés et calculés du triméthoprimine dans le plasma pour les différentes limites de quantification chez les 8 chevaux de l'étude.....	94
Tableau 14: Temps de détection observés et calculés du triméthoprimine dans l'urine pour les différentes limites de quantification chez les 8 chevaux de l'étude.....	94
Tableau 15: Temps de détection observés et calculés du desméthyltriméthoprimine dans le plasma pour les différentes limites de quantification chez les 8 chevaux de l'étude .....	95

Tableau 16: Temps de détection observés et calculés du desméthyltriméthopri­me dans l'urine pour les différentes limites de quantification chez les 8 chevaux de l'étude .....	95
Tableau 17: Résultats des paramètres calculés: EPC, IPC de la sulfadoxine dans le plasma pour chacun des chevaux de l'étude .....	97
Tableau 18: Paramètres nécessaires aux calculs des EPC, IPC et temps de retrait de la sulfadoxine, pour chacun des chevaux de l'étude. (Cl :Clairance, HL : temps de demi vie) (*paramètres calculés après suppression des concentrations en sulfadoxine <1ng/mL; **La dose de sulfadoxine correspond à une dose pour 24h).....	98
Tableau 19: Résultats des paramètres calculés: EPC, IPC et WT de la sulfadoxine dans le plasma pour chacun des chevaux de l'étude .....	99
Tableau 20: Paramètres nécessaires aux calculs des EPC, IPC et temps de retrait de la triméthopri­me, pour chacun des chevaux de l'étude (*paramètres calculés après suppression des concentrations en triméthopri­me <1ng/mL ; ** La dose de triméthopri­me correspond à une dose pour 24h) .....	100
Tableau 21: Résultats des paramètres calculés: EPC, IPC et WT du triméthopri­me dans le plasma pour chacun des chevaux de l'étude .....	100
Tableau 22: Détermination des $fT > CMI$ pour la Sulfadoxine dans le plasma.....	108
Tableau 23: Détermination des $fT > CMI$ pour le Triméthopri­me dans le plasma .....	110
Tableau 24: Détermination des $fT > CMI$ pour la Sulfadoxine dans les urines.....	112
Tableau 25: Détermination des $fT > CMI$ pour le Triméthopri­me dans les urines .....	114

# Liste des annexes

Annexe 1: Prélèvements et résultats sanguins .....	137
Annexe 2: Prélèvements et résultats urinaires.....	140
Annexe 3: Résultats individuels obtenus avec Pkanalix pour la sulfadoxine dans le plasma	144
Annexe 4: Résultats moyens obtenus avec Pkanalix pour la sulfadoxine dans le plasma....	145
Annexe 5: Résultats individuels obtenus avec Pkanalix pour le triméthoprimé dans le plasma .....	146
Annexe 6: Résultats moyens obtenus avec Pkanalix pour le Triméthoprimé dans le plasma .....	147
Annexe 7: Détermination de la pente terminale ( $\lambda_Z$ ) d'élimination de la sulfadoxine dans le plasma pour chacun des chevaux de l'étude avec Pkanalix....	148
Annexe 8: Détermination de la pente terminale ( $\lambda_Z$ ) d'élimination du triméthoprimé dans le plasma pour chacun des chevaux de l'étude avec Pkanalix .....	149
Annexe 9: Détermination de la pente terminale ( $\lambda_Z$ ) d'élimination du desméthyltriméthoprimé dans le plasma pour chacun des chevaux de l'étude avec Pkanalix .....	150
Annexe 10: Détermination de la pente terminale ( $\lambda_Z$ ) d'élimination de la sulfadoxine dans les urines pour chacun des chevaux de l'étude avec Pkanalix....	151
Annexe 11: Détermination de la pente terminale ( $\lambda_Z$ ) d'élimination de la sulfadoxine dans les urines pour chacun des chevaux de l'étude avec Pkanalix....	152
Annexe 12: Détermination de la pente terminale ( $\lambda_Z$ ) d'élimination du desméthyltriméthoprimé dans les urines pour chacun des chevaux de l'étude avec Pkanalix .....	153



# LISTE DES ABREVIATIONS

AFLD : Agence Française de Lutte contre le Dopage

AMA : Agence Modiale Antidopage

ARCI : *Association of Racing Commissioners International*

AUC : *Area Under the Curve*

CMA : Code Mondial Antidopage

DE2 : Dose Efficace à 2%

DE50 : Dose Efficace à 50%

DES : Desméthyltriméthoprim

EADCMR : *Equine AntiDoping Controlled Medication Rules*

EHSLC : *European Horserace Scientific Liaison Commitee*

EPO : Erythropoïétine

EPC : *Effective Plasma concentration*

FEI : Fédération équestre internationale

FFE : Fédération française d'équitation

FNCH : Fédération Nationale des Courses Hippiques

IFHA : *International Federation of Horseracing Authorities*

IPC : *Irrelevant drug Plasma Concentration*

IUC : *Irrelevant drug Urine Concentration*

MCP : Mesures de Contrôles de Performance

p.a. : post-administration

PABA : Acide Para-Amino Benzoïque

SETF : Société d'encouragement à l'Élevage du Trotteur Français

SDX : Sulfadoxine

SF : Facteur de sécurité

TMP : Triméthoprim

# INTRODUCTION

Si aujourd'hui la filière équine est centrée sur les sports équestres et les courses hippiques. L'usage des chevaux de selles est resté, jusqu'à la révolution française, un privilège aristocratique à vocation guerrière. Le cheval a progressivement perdu son statut militaire et l'équitation civile est apparu au début du XXe siècle avec au départ quelques 30 000 licenciés, pour atteindre 692 400 licenciés en 2022 et être la 3e fédération sportive française.

De même, les courses de chevaux s'inscrivent dans l'histoire dès l'antiquité chez les Grecs et les Romains. Les courses de trots relèvent de l'héritage des fêtes de village tandis que les courses de galop ont réellement été développées pendant le règne de Louis XVI pour le loisir des aristocrates. Les courses sont restées dans les mœurs et c'est en 1931 avec la création du Pari Mutuel Urbain (PMU) que la prise des paris sportifs a été étendue en dehors des hippodromes et a permis l'essor de ces disciplines. L'ouverture des paris en ligne a ensuite apporté une augmentation importante et des changements dans les modalités des paris.

La France compte 1 035 000 équidés en 2021, avec 18 112 courses et 57 920 concours organisés dans l'année (Réseau Équin 2011).

À mesure que les sports équestres et les courses hippiques ont gagné en popularité et en compétitivité, la nécessité d'assurer des conditions de jeu justes, tout en préservant la santé des athlètes équins, a engendré la mise en place de normes strictes de contrôle des substances médicamenteuses.

Ce contrôle va bien au-delà de la simple interdiction des substances dopantes : certaines substances sont formellement interdites chez le cheval de course alors que d'autres substances sont autorisées chez le cheval de course malade. Cependant, celles-ci ne doivent pas conduire à une amélioration des performances en course. Le contrôle repose donc sur l'étude approfondie des cinétiques d'élimination de ces substances, la mise en place de protocoles de détection et d'une réglementation précise pour garantir une compétition équitable tout en préservant le bien-être des chevaux. Dans ce contexte, l'étude des cinétiques d'élimination des substances s'avèrent être un pilier essentiel dans l'établissement des mesures permettant de maintenir l'intégrité et la crédibilité des compétitions équestres.

En effet, comprendre la cinétique d'élimination d'une substance permet de définir une fenêtre de détection, c'est-à-dire la période pendant laquelle cette substance est détectable chez

le cheval, et ainsi déterminer des temps à respecter avant le retour en compétition pour les substances médicamenteuses. Cette fenêtre de détection est cruciale dans la lutte contre le dopage, car elle détermine l'intervalle de temps pendant lequel une substance interdite en course peut être identifiée après son administration, mais aussi le temps à respecter suite à la dernière administration d'un médicament avant de reprendre la compétition. En somme la cinétique d'élimination permet de définir des temps de détection et des temps de retrait.

Cette étude a pour objectif d'analyser la cinétique d'élimination de la sulfadoxine et du triméthoprim, deux antibiotiques, après une injection unique intraveineuse afin de déterminer des temps de détection et des temps de retrait dans le cadre du contrôle des médicaments chez les chevaux.

Elle permet aussi de faire une première évaluation de l'efficacité de l'association triméthoprim-sulfadoxine chez le cheval.

Nous commencerons par reprendre l'histoire du dopage, l'évolution des politiques antidopage et leur évolution vers un contrôle des médicaments. Puis, nous présenterons le triméthoprim et la sulfadoxine : leur découverte, leurs propriétés chimiques ainsi que les paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamique connus.

Enfin, nous nous intéresserons aux expériences menées, à la méthode et au matériel utilisés, ainsi qu'aux résultats obtenus et leur interprétation.

# PREMIERE PARTIE : BIBLIOGRAPHIE

## **1 Contrôle des médications dans le cadre de la lutte anti-dopage**

### **1.1 L'origine et la définition du mot dopage**

#### **1.1.1 Origine du mot dopage**

Bien que les tentatives visant à améliorer les performances s'inscrivent bien plus tôt dans l'Histoire, le terme dopage ne trouve sa racine qu'au XVIe siècle. Le mot « doop » signifie « mélange, mixture » en néerlandais. Il désignait une boisson alcoolisée préparée à base de raisins que les guerriers Zoulous utilisaient comme stimulant lors des combats ou des cérémonies (Müller 2009). Le terme « doping » n'est ensuite apparu qu'en 1889 dans le dictionnaire anglais (Barboussat 2007), puis ce terme a été francisé en 1903 (Allard et al. 2008).

#### **1.1.2 Définition actuelle et générale du dopage**

A ses débuts, la notion de dopage ne prenait en compte que les moyens ou molécules augmentant les performances ; ainsi la réduction du stress et de la douleur n'étaient pas prise en compte.

La définition du dopage a évolué au gré des progrès médicaux et pharmacologiques, ainsi que selon les effets recherchés dans chaque discipline équestre.

Actuellement, le dopage est défini par le dictionnaire comme le « fait d'administrer, d'inciter à l'usage, de faciliter l'utilisation, en vue d'une compétition sportive, de substances ou de procédés de nature à accroître artificiellement les capacités physiques d'une personne ou d'un animal ou à masquer leur emploi en vue d'un contrôle » (Larousse 2023). Le dopage est interdit car il remet en cause l'éthique et l'équité sportive (*Le dopage | Fédération Française d'Équitation - FFE 2022*).

### **1.2 Les premières formes de dopage : l'Homme et la quête de l'amélioration des performances physiques**

Les premières traces du dopage remontent à l'Antiquité. Les légendes racontent que Diomède, fils d'Arès et roi des Bistomes en Thrace, nourrissait ses chevaux de chair humaine afin de les rendre plus féroces et imbattables (Clarke, Moss 1976) tandis que les Romains

administraient l'hydromel à leurs chevaux afin d'accroître leur performance lors des courses de chars (Barboussat 2007).

La quête d'amélioration des performances ne se limite pas à l'Europe. Dans l'Antiquité chinoise, le Ma Huang (*Ephedra sinica*), habituellement utilisé pour réduire la toux par les médecins chinois il y a 5000 ans, était parfois détourné de son rôle thérapeutique et consommé pour ses propriétés stimulantes (Müller 2009). Au VI<sup>e</sup> siècle avant J.C., le médecin et chirurgien indien Sushruta recommandait de consommer des testicules pour augmenter la virilité. Cette pratique était également répandue avant les batailles chez les Huns (316-484 après J.C.), probablement pour les mêmes raisons (Müller 2009).

Ainsi le dopage est une pratique qui est inscrite dans l'histoire de l'Homme dès les premières civilisations. En revanche, le dopage était déjà interdit et sanctionné, parfois de la peine de mort, dès les premiers Jeux olympiques grecs. L'empereur Romain Théodose avait d'ailleurs aboli les anciens Jeux olympiques en 365 après J.C., donnant comme raison que les jeux étaient devenus « un foyer de tricherie, d'atteintes à la dignité humaine et de dopage ». En effet, entre 776 avant J.C. et 393 après J.C. la consommation de champignons hallucinogènes était une pratique courante lors des compétitions olympiques (Müller 2009).

### **1.3 Les premiers cas de dopage hippique et les débuts des procédures anti-dopage**

La première loi sur le dopage voit le jour en 1666 à Worksop, en Angleterre. Celle-ci interdit l'utilisation de substances excitantes dans les courses de chevaux. Les premiers cas de dopage documentés datent de 1812 avec le procès de Daniel Dawson pour l'empoisonnement de chevaux à l'arsenic (Clarke, Moss 1976). Malgré ses propriétés toxiques et cancérigènes l'arsenic a longtemps été considéré comme un médicament. L'arsénite de potassium a longtemps été prescrite chez l'homme et chez le cheval comme stimulant de l'état général ou de l'appétit (Popot et al. 2018). Il a fallu attendre le début du XX<sup>e</sup> siècle avant de voir se répandre les cas de dopage. Dans les années 1910, les autorités autrichiennes de courses, alertées par la situation, font appel à des chimistes (le chimiste russe Bukowski et Pr. Fränkel de l'université de Vienne) pour démontrer qu'il est possible de détecter la présence de substances dopantes dans la salive des chevaux (Clarke, Moss 1976). Les tests salivaires dans le cadre de la surveillance des substances dopantes furent donc mis en place et permirent une mise sous contrôle de la situation du dopage dans les courses de chevaux en Europe (Barboussat 2007). Le succès de ce test était dû au fait que les substances dopantes étaient très souvent

administrées par voie orale et que le nombre de substances utilisées à des fins de dopage était restreint. On retrouvait principalement la caféine, la morphine et la strychnine (Clarke, Moss 1976).

On considère souvent que le dopage a été importé de l'Amérique vers l'Europe, car de nombreuses substances stimulantes circulant dans le dopage sur les champs de courses européens étaient importés d'Amérique. Cependant, l'impact du dopage aux États-Unis n'est devenu problématique que dans les années 1930, notamment par l'introduction des paris sportifs et par l'augmentation du nombre de courses organisées (Clarke, Moss 1976). Ainsi de la même manière qu'en Europe, l'introduction des tests salivaires en 1932 a permis de contrôler le dopage aux États-Unis.

#### **1.4 La diversification de l'arsenal du doper depuis le XXe siècle**

Le dopage a connu, avec la Seconde Guerre Mondiale, une multiplication et une diversification des produits et procédés utilisés. Principalement développée chez les chevaux de course, la pratique s'est étendue aux chevaux de sport. Les alcaloïdes ont été progressivement remplacés par d'autres substances aux propriétés pharmacologiques variées comme les amphétamines et autres sympathomimétiques. Les amphétamines, par exemple, ont été détectées sur les champs de courses hippiques dès 1940 (Barboussat 2007) et ont fait l'objet de contrôle anti-dopage positif encore récemment (*Nantes. 'Cheval fou à l'hippodrome' : le spectre du dopage [vidéo] 2016*).

L'augmentation du nombre annuel de courses hippiques et des enjeux financiers, incitent les entraîneurs à rechercher les performances maximales de leurs chevaux. Ainsi dans les années 1950, les substances cardiotoniques comme la digitaline ou l'ouabaïne ont fait leur apparition dans les compétitions chez l'homme et chez les chevaux de courses. C'est dans les années 1960-1970 que la pharmacopée du doper s'est étendue à d'autres molécules aux propriétés variées : les anti-inflammatoires (phénylbutazone notamment), les anesthésiques locaux, diurétiques, etc. (Barboussat 2007; Holt, Erotokritou-Mulligan, Sönksen 2009)

Progressivement, les substances mimant les hormones et leurs précurseurs ont été détournées de leur utilisation thérapeutique et utilisées à des fins de dopage. Les années 1980 ont été marquées par l'utilisation des stéroïdes pour leur propriétés anabolisantes. Puis dans les années 1990, les procédés d'augmentation de la teneur en oxygène du sang ont fait leur apparition notamment dans les épreuves d'endurance. L'érythropoïétine (EPO) recombinante

et les transfusions sanguines en sont des exemples, cependant ils ont rarement été mis en évidence chez les chevaux.

Depuis les années 2000, la tendance est à l'utilisation de substances naturelles comme les hormones de croissance, la cortisone naturelle et l'insuline (Barboussat 2007). Actuellement, la plupart des cas positifs au dopage concernent des substances thérapeutiques.

## **1.5 De l'évolution des pratiques de dopage à l'évolution des contrôles**

Face à la montée du dopage au début du XXe siècle, des travaux sont menés par des professeurs de l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort, afin de mettre en évidence les effets recherchés et indésirables de l'utilisation des alcaloïdes chez le cheval. Il est alors démontré que l'utilisation de ces substances peut générer des perturbations de la fonction digestive, une hypertrophie cardiaque et des troubles du caractère chez les équidés. Le dépistage du dopage est, dans un premier temps, alors basé sur les signes cliniques présentés par l'animal (Lambolez 2011; Meuly 2019).

Le test salivaire introduit dans les années 1910 fut novateur et a permis d'apporter une méthode fiable de détection de substances dopantes. En France, il est devenu systématique en 1912 et validé pour les contrôles officiels pendant de nombreuses années. Et cela, même si la présence de composés autres que les alcaloïdes pouvaient interférer avec la méthode de cristallisation (Clarke, Moss 1976; Barboussat 2007).

C'est en 1932, en Floride, que le premier laboratoire spécialisé dans les contrôles anti-dopage voit le jour. En France, c'est sous l'impulsion du Service des Haras en 1973, que le Professeur Lorgue et ses collaborateurs de la Chaire de Pharmacie et Toxicologie de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon (ENVL), s'attellent à la mise au point de techniques de détection des agents dopants chez le cheval de sport. Une unité de contrôle anti-dopage, appelé le Laboratoire de Recherches sur le cheval de Sport, est créé en 1987 conjointement par l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) et l'ENVL (Meuly 2019).

L'évolution rapide de la pharmacopée impliquée dans le dopage et l'augmentation des sommes d'argent mis en jeu lors des courses ont contraint à la mise en place de contrôles anti-dopages systématiques afin de garantir l'intégrité des compétitions et de protéger les équidés engagés. D'autre part, l'évolution des pratiques de dopage ainsi que l'apparition de nouvelles molécules chimiques actives à de très faibles concentrations ont contraint les laboratoires à développer des moyens de contrôle plus performants et plus sensibles. Néanmoins, les mesures contre le

dopage ne sont devenues efficaces qu'à partir des années 1960 grâce aux progrès des méthodes analytiques et de l'instrumentation.

Bien que les procédures analytiques soient propres à chaque laboratoire, elles consistaient globalement en une première étape d'extraction par solvant des molécules suivie de procédés analytiques de reconnaissance de celles-ci. Les premiers chercheurs s'appuyaient presque exclusivement sur le test microcristallin. Il repose sur la propriété de la plupart des alcaloïdes à précipiter en solution aqueuse en présence de certains réactifs, notamment les métaux lourds et nobles (Clarke, Moss 1976). L'identification des substances se faisait alors sur la forme des cristaux. Entre 1945 et 1976, l'introduction de la chromatographie sur couche mince ou en phase gazeuse ainsi que la spectrométrie de masse sont un tournant dans les mesures anti-dopage et permet l'identification de nouvelles substances (Clarke, Moss 1976). La salive et l'urine étaient les fluides les plus utilisés pour les prélèvements.

Le contrôle du dopage était donc permis par la combinaison de procédures analytiques et d'une police d'investigation. Cependant, la plus grande faiblesse des procédures anti-dopage résidait alors dans le fait que les prélèvements étaient réalisés après les courses, ne prévenant pas les paris frauduleux. En effet, les paris sportifs sur les résultats des courses étant devenus lucratifs, des complots sur les paris se sont progressivement organisés. En Angleterre, entre 1960 et 1965, 3 procès ont condamné et puni sévèrement un gang pour 3 cas de dopage : le premier cas de dopage impliquait l'administration de caféine ; dans le deuxième, les favoris programmés pour le lendemain et soutenus lors du marché des paris se sont vus administrés de fortes doses de sédatifs (phénobarbital), annulant ainsi leur participation ; le dernier cas impliquait de la même manière la sédation des favoris cependant la dose administrée n'empêchait pas leur participation. Le dopage qui était jusqu'alors souvent un moyen d'augmenter ses chances de gagner par l'augmentation des performances physiques du cheval, s'est alors étendu à l'administration de substances pour influencer les résultats négativement (Clarke, Moss 1976).

## **1.6 Les intérêts et objectifs du dopage dans les courses et sports équestres**

### **1.6.1 Intérêts et enjeux financiers**

Les enjeux financiers, qu'ils soient dans les courses hippiques ou dans les sports équestres, sont de taille.

En France, environ 18 000 courses hippiques sont organisées chaque année (Drapeau 2022). En 2021, on a recensé 26 500 chevaux à l'entraînement (courses de trot et de galop confondues) avec 8,9 milliards d'euros de paris (Institut français du cheval et de l'équitation 2022). La moyenne annuelle de gains d'un trotteur est d'environ 15 000 euros, les meilleurs chevaux pouvant cumuler entre 1 à 5 millions d'euros de gains sur toute leur carrière de trot (*LeTROT - Devenir propriétaire - Guide détaillé - Gains de courses* 2023).

Dans les sports équestres, les gains varient selon les disciplines et leur niveau d'épreuve. Sur les Concours de Saut d'obstacles internationaux niveau 5 étoiles (CSI 5\*), les dix meilleurs cavaliers au niveau mondial cumulaient près d'un million d'euros de gains chacun. Sur une épreuve de grand prix sur un concours de niveau 5 étoiles les dotations peuvent monter jusqu'à 500 000€. Les gains annuels des cavaliers performants peuvent s'élever à des centaines de milliers d'euros (Machado 2022).

Compte-tenu de ces enjeux financiers majeurs, le dopage s'est donc révélé comme un moyen d'augmenter les chances de remporter les dotations mises en jeu.

### **1.6.2 Améliorer les performances physiques**

La performance du cheval lors d'une compétition ou d'une course est souvent lié à son mental (esprit de compétition, franchise, ...) et à ses capacités physiques (Kamerling 1993). Par exemple, dans les courses hippiques, la victoire revient aux chevaux ayant couru la distance avec le meilleur temps. En sauts d'obstacles, il faut effectuer le parcours sans faute le plus rapide afin de décrocher la victoire. Enfin dans les épreuves de cross ou les courses d'endurance, la capacité du cheval à effectuer le parcours donné en conservant une bonne condition physique est un critère de victoire. Ainsi, dans ses débuts, le dopage permettait notamment d'améliorer les performances physiques des chevaux. À la fin du XIXe siècle, le doping consistait à administrer des molécules aux propriétés stimulantes et aux effets passagers peu de temps avant la course (Barboussat 2007). Pour faire la différence avec les autres concurrents, certains chevaux de course se voyaient administrer des stimulants du système nerveux central (caféine, théobromine, théophylline, atropine, aconitine, cocaïne, etc.) afin d'augmenter leurs capacités cardiaques et respiratoires. C'est la Seconde Guerre Mondiale qui a permis par la suite l'essor de substances aux propriétés pharmacologiques variées notamment les amphétamines pour stimuler le système nerveux central ; les stéroïdes anabolisants et des hormones de croissance pour l'amélioration du rendement musculaire ; l'EPO et les transfusions sanguines pour augmenter l'apport d'oxygène sanguin.

### **1.6.3 Réduction de la douleur**

Le dopage comprend aussi toute substances ou tout procédé permettant de masquer une douleur. Ainsi, le cheval peut concourir malgré l'atteinte qu'il présente si celle-ci n'altère pas ou peu sa performance lors de la compétition. Les substances analgésiques peuvent être administrées par voie générale (anti-inflammatoires, alcaloïdes, etc ...) ou locale. L'analgésie locale peut être obtenue par exemple par injection intra-articulaire de corticoïdes, mésothérapie, ou encore application de gel/pommade avec absorption transcutanée des substances. Les substances analgésiques peuvent avoir des effets de quelques jours à 2-3 mois selon les substances, les méthodes d'administration et les formulations utilisées. Pour une analgésie plus longue voire définitive, des interventions chirurgicales comme la névrectomie des nerfs digitaux propres palmaires/plantaires permettent de supprimer la sensibilité de la partie distale du pied. Cette pratique est relativement commune aux États-Unis. Plusieurs méthodes existent (cryothérapie, transection par la technique de la guillotine ou par laser CO2...) (Dabareiner, White, Sullins 1997), seule la névrectomie basse (en dessous du boulet) est autorisée aux États-Unis (Equidia 2020). C'est une intervention indiquée dans le cas de pathologies chroniques du pied mais qui est interdite en compétition dans la plupart des pays européens (France, Grande Bretagne, pays scandinaves, ...) (Hubert 2021) et par le règlement vétérinaire de la FEI (Fédération équestre internationale).

### **1.6.4 Réduction du stress**

Un autre enjeu du dopage est la réduction du stress et de ses conséquences. Les compétitions impliquent souvent le transport et le changement d'environnement des chevaux ce qui occasionnent du stress chez l'animal. Ce stress peut mener à de l'anxiété, de l'appréhension, de la frustration, de l'agitation, de l'agressivité, de l'hypoactivité ou de l'hyperactivité pouvant affecter les performances du cheval (Kamerling 1993).

Pour certaines disciplines comme le dressage notamment, la coordination et la discipline du cheval sont des critères d'évaluation (Kamerling 1993). Ainsi, la performance du cheval lors de ces épreuves est directement liée au calme et à l'écoute de la monture. Certaines substances, l'acépromazine et le diazépam principalement, peuvent alors être utilisées afin de pallier les conséquences du stress. Cependant, comme évoqué précédemment, ces molécules peuvent aussi entraîner une hypoactivité chez l'animal, et faire l'objet de dopage par malveillance, c'est-à-dire pour générer un désavantage chez un concurrent.

On peut retenir le cas du cavalier de concours complet Maxime Livio lors des Jeux Équestres Mondiaux 2014. Celui-ci a vu sa monture, contrôlée positive à l'acépromazine à l'issue de

l'épreuve de dressage. L'acépromazine est une phénothiazine qui, utilisée à faible dose, est un agent tranquillisant fréquemment utilisé chez le cheval. Cependant, le cavalier assurait qu'il ne s'agissait pas d'une administration intentionnelle de sa part ou de la part de son équipe et avançait l'hypothèse d'une administration malveillante ou accidentelle par contamination de l'aliment ou de leur contenant (*Equitation: la France perd sa qualification en complet pour Rio 2015*).

### **1.6.5 Masquer ou diluer les substances dopantes**

Le dopage inclut toute pratique ou molécule qui masquent des procédés ou des substances interdites d'utilisation. Certains composés tels que la dipyrone, le polyéthylène glycol ou la thiamine peuvent interférer avec la détection d'autres produits non autorisés et entrent donc dans cette définition. À cause de leurs propriétés, ils peuvent masquer un recours à d'autres substances non autorisées.

Afin d'éviter un contrôle positif, certains entraîneurs ou cavaliers utilisent des molécules permettant d'augmenter l'élimination rénale des substances non autorisées utilisées. Les diurétiques (ex : furosémide) et les agents uricosuriques (ex : probénécide) sont les substances les plus communes.

L'autorisation des diurétiques en compétition est le principal point de débat empêchant l'harmonisation des règles antidopage à l'échelle mondiale (Barboussat 2007; Toutain 2005).. Les diurétiques sont autorisés et largement utilisés aux États-Unis et au Canada chez les chevaux de course, car ils permettraient de limiter l'hémorragie pulmonaire induite par l'exercice (HPIE) (Hinchcliff et al. 2015). En effet, certaines études ont montré que l'utilisation du furosémide en amont des courses réduisait l'incidence de l'HPIE. Cependant, leur propriété pharmacodynamique principale permettant d'augmenter la fonction rénale d'élimination pourrait masquer d'autres substances utilisées dans le but de doper le cheval et leur métabolite en les diluant par augmentation du volume d'urines émises.

Des études ont montré l'action de dilution des diurétiques sur les concentrations urinaires de nombreux médicaments, dont la phénylbutazone, la flunixin, le clenbutérol, la procaïne... (Barboussat 2007)

### **1.7 Le dopage involontaire ou accidentel**

Le dopage peut cependant être involontaire notamment par contamination alimentaire. En effet, l'alimentation peut contenir des contaminants accidentels dont les plus connus sont

les méthylxanthines (caféine, théobromine, théophylline) ainsi que l'atropine et la scopolamine (Barboussat 2007; Benoit 2002).

Les chevaux peuvent consommer les contaminants directement par ingestion des fourrages composés de plantes séchées non sélectionnées contenant naturellement des substances prohibées ou bien par l'intermédiaire d'aliments complets industriels contaminés. L'atropine et la scopolamine sont notamment présentes dans les plantes de la famille des solanacées. La caféine et la théobromine quant à elles proviennent essentiellement des plantes de la famille des sterculiacées, des rubiacées ou encore des théacées. Le café, le cacao, le thé et les noix de Kola sont des aliments sources de ces contaminants (Benoit 2002).

Le dopage involontaire peut aussi résulter d'un délai insuffisant entre l'administration d'un médicament et la compétition.

## **1.8 Classification des agents dopants**

Ainsi, en prenant l'ensemble des considérations évoquées, il est possible de catégoriser les agents dopants selon les objectifs voulus. La classification de Tobin est l'un des outils utilisés pour cela :

- Les médicaments pour gagner, à action aiguë (amphétamines, caféine...) ou chronique (stéroïdes anabolisants, tranquillisants à faibles doses...);
- Les médicaments pour perdre (tranquillisants, sédatifs...);
- Les médicaments restaurant les performances (tous les antalgiques au sens large);
- Le dopage accidentel;
- Les médicaments masquant d'autres agents dopants;
- Les modificateurs de la diurèse;
- Les autres types de dopage (névrectomie palmaire/plantaire, transfusion sanguine...)

D'une manière générale, on distingue les médicaments administrés avec une réelle volonté de tricher, les erreurs de thérapeutique et les contaminants alimentaires (Barboussat 2007).

## **2 Les différentes structures et réglementations de la lutte anti-dopage**

### **2.1 La législation antidopage en France et son évolution**

La notion de dopage a évolué au cours du temps avec les progrès de la chimie et l'évolution de la pharmacopée.

Le mot dopage a fait son apparition dans le dictionnaire français, le Petit Larousse Illustré, en 1903 et était d'abord défini comme : « *l'emploi d'excitants et les excitants eux-mêmes susceptibles au moment d'une course de donner au cheval une ardeur factice et momentanée* ». En 1950, ce même dictionnaire en donne une nouvelle définition : « *C'est absorber un stimulant ou toute substance modifiant ou exaltant considérablement certaines propriétés avant de se présenter à un examen, une épreuve sportive* ». Ainsi, le dopage n'est plus réservé exclusivement au sport. La France et la Belgique deviennent les premiers pays à légiférer dans ce domaine en 1965. C'est ainsi qu'est promulguée en France, le 1<sup>er</sup> juin 1965, la loi n° 65-412 dite loi Herzog, qui énonce que « *Sera puni d'une amende de 500 à 5 000 F quiconque aura, en vue ou au cours d'une compétition sportive utilisé sciemment l'une des substances déterminées par le règlement d'administration publique, qui sont destinées à accroître artificiellement et passagèrement ses possibilités physiques et sont susceptibles de nuire à sa santé* » et « *Sera puni d'un emprisonnement d'un mois à un an et d'une amende de 500 à 5000 F ou de l'une de ces deux peines seulement quiconque aura, par quelque moyen que ce soit, facilité sciemment l'accomplissement des actes visés à l'article 1er ci-dessus ou aura incité à les accomplir* » (Lambolez 2011; Loi n°65-412 du 1 juin 1965 TENDANT A LA REPRESSION DE L'USAGE DES STIMULANTS A L'OCCASION DES COMPETITIONS SPORTIVES 1965).

La persistance du dopage et sa médiatisation ont conduit à des modifications de la législation afin de la rendre plus efficace avec la loi Bambuck en 1989. Celle-ci reprend en grande partie les bases de la loi Herzog, mais se veut plus complète. De plus, elle étend les dispositifs législatifs appliqués aux sports humains aux animaux participant à toute compétition organisée par les fédérations sportives agréées par le ministère de la Jeunesse et des Sports (chevaux, chiens, pigeons...) et en particulier ici par la Fédération Française d'Équitation (FFE) qui régit en France toutes les compétitions de dressage, sauts d'obstacles, concours complet,

attelage, voltige, pony-games, reining, TREC et horseball (Lambolez 2011; *Loi n°65-412 du 1 juin 1965 TENDANT A LA REPRESSION DE L'USAGE DES STIMULANTS A L'OCCASION DES COMPETITIONS SPORTIVES 1965*).

Une nouvelle loi vient amender les deux précédentes suite à l'affaire Festina qui a ébranlé le monde du cyclisme lors du Tour de France de 1998. Elle définit le dopage comme suit : « *Le dopage est défini par la loi comme l'utilisation de substances ou procédés de nature à modifier artificiellement les capacités d'un sportif. Font également partie du dopage, les utilisations de produits ou de procédés destinés à masquer l'emploi de produits dopants. La liste des procédés et des substances dopantes mise à jour chaque année fait l'arrêté conjoint des ministres chargés des sports de la santé* ».



*Figure 1: Logo de l'Agence Française de Lutte contre le Dopage (AFLD)*

Cette loi est responsable de la création de l'Agence Nationale de Prévention contre le Dopage et du Conseil de Prévention et de Lutte Contre le Dopage qui a pour mission d'analyser les pratiques du dopage et d'harmoniser les décisions et les sanctions des fédérations sportives (Lambolez 2011; *Loi n°65-412 du 1 juin 1965 TENDANT A LA REPRESSION DE L'USAGE DES STIMULANTS A L'OCCASION DES COMPETITIONS SPORTIVES 1965*).

Le 3 juillet 2008, la loi n°2008-650 vient renforcer les moyens de lutte contre le dopage. En effet, la législation française sanctionnait les sportifs qui se dopaient, mais ne disposaient pas de moyens efficaces de lutte contre le trafic des produits dopants. Cette loi crée une infraction pénale pour la détention de produits dopants, assortie d'une peine d'un an de prison ferme et d'une amende de 3 750 euros, permettant d'engager les procédures visant à remonter et à démanteler les filières de distribution de produits. D'autre part, elle complète la liste des incriminations pénales en matière de trafic, désormais sanctionné d'une peine maximale de cinq ans de prison ferme et d'une amende de 75 000 euros : outre la cession ou l'offre de produits dopants, seront désormais prohibés la fabrication, la production, l'importation, l'exportation et le transport illicites de produits interdits (Lambolez 2011; *LOI n° 2008-650 du 3 juillet 2008 relative à la lutte contre le trafic de produits dopants (1) 2008*).

La dernière loi sur le dopage est la loi n°2021-194 datant du 23 février 2021. Elle habilite le gouvernement Français à prendre des mesures législatives nécessaires pour assurer la

conformité du droit français aux principes du code mondial antidopage. Car, depuis 2005, la France fait partie de la convention internationale contre le dopage dans le sport. D'autre part, elle renforce l'efficacité de la lutte contre le dopage, notamment pour l'accueil de la coupe du monde de rugby de 2023 et en vue des Jeux olympiques et paralympiques de 2024 (*LOI n° 2021-194 du 23 février 2021 habilitant le Gouvernement à prendre les mesures relevant du domaine de la loi nécessaires pour assurer la conformité du droit interne aux principes du code mondial antidopage et renforcer l'efficacité de la lutte contre le dopage (1) - Légifrance 2023*).

## **2.2 Nécessité de lutter contre le dopage**

La lutte contre le dopage est motivée par la nécessité de préserver l'image des courses hippiques et des sports équestres sur laquelle repose la confiance des parieurs et des professionnels du milieu équin. Ainsi la victoire lors des compétitions doit valoriser le fairplay et le mérite.

D'autre part, le dopage présente des effets indésirables sur le court et le long terme.

En effet, les substances utilisées peuvent être à l'origine d'accident, mettant alors en péril la monture, le cavalier et parfois les spectateurs. L'accident du 12 avril 2016 à l'hippodrome du Petit Port à Nantes en est un exemple. En effet, lors de la 7<sup>e</sup> course, le Pur-sang « Fin March » qui était alors en tête s'est soudainement élancé et déporté vers les barrières de protection, basculant par-dessus celles-ci. L'équidé est alors tombé sur les spectateurs, blessant dans sa chute trois personnes et n'a pas survécu à cet accident. Les analyses avaient alors révélé la présence d'un produit dérivé d'amphétamines dans le sang du cheval impliqué (*Nantes. 'Cheval fou à l'hippodrome' : le spectre du dopage [vidéo] 2016*).

Outre les perturbations du système nerveux central liées à certains agents dopants, les substances ou procédés diminuant la sensibilité au niveau des membres (pommade anti-inflammatoire à base de capsaïcine, névrectomie palmaire par exemple) peuvent eux aussi provoquer des chutes (Lambolez 2011).

Les effets à long terme du dopage sont aussi préoccupants pour la santé des chevaux. Chez l'Homme et le rat, les études montrent que l'utilisation prolongée de stéroïdes anabolisants aurait pour conséquence une augmentation de la rigidité des tendons et une baisse du potentiel d'absorption des impacts de ces derniers, augmentant ainsi le risque de blessure.

Chez les chevaux, ils peuvent aussi causer de l'insuffisance surrénalienne, une attitude agressive, de l'infertilité et des cas de fourbures sévères (Spanoudes (Κ. Σπανουδης), Diakakis (Ν. Διακακης) 2017; Lambolez 2011). Ainsi des chevaux en bonne santé peuvent développer des pathologies qui peuvent entraîner des répercussions sur leur carrière sportive voire sur leur vie entière en cas d'utilisation prolongée de ces substances.

Les résultats d'une étude basée sur l'échocardiographie (Sleeper, Kearns, McKEEVER 2002) suggèrent que le clenbutérol a des effets néfastes sur la fonction cardiaque équine, provoquant des modifications des dimensions structurelles et augmentant le risque de rupture aortique (Spanoudes (Κ. Σπανουδης), Diakakis (Ν. Διακακης) 2017). De même, l'utilisation prolongée et récurrente d'anti-inflammatoires non stéroïdiens pour masquer une douleur peut engendrer l'apparition d'ulcères gastriques ou encore l'aggravation des blessures (Lambolez 2011).

D'autre part, il est considéré que si l'atteinte du cheval justifie un traitement, alors sa participation à la compétition constitue une atteinte à sa santé et son bien-être. Aussi, l'administration prolongée d'excitants et de stimulants favorise le risque d'épuisement des chevaux, qui s'il n'est pas pris en compte, peut aller jusqu'au décès de l'animal (Lambolez 2011).

Le palmarès en compétition, que ce soit dans le milieu des courses ou celui des sports équestres, est un facteur prépondérant pour les individus reproducteurs. Les éleveurs cherchent à sélectionner les meilleures génétiques afin de produire des descendants performants à leur tour. D'autre part, cette valeur génétique se traduit aussi dans leur prix à la vente. La lutte contre le dopage permet donc de garantir la justesse des performances et donc la sélection des chevaux pour l'élevage par rapport à leur valeur intrinsèque, et ainsi garantir la qualité de la sélection génétique.

Le dopage constitue donc une atteinte à l'éthique sportive et à la santé des sportifs. La lutte contre le dopage est donc primordiale et est permise par un cadre réglementaire qui a évolué pour contrer ces pratiques.

### **2.3 Les autorités de la lutte antidopage**

A l'échelle nationale comme internationale, le monde des courses hippiques et celui des sports équestres ne sont pas régis selon la même approche en ce qui concerne la réglementation

autour du dopage. Le cadre réglementaire des sports équestres dérive de celui des sports chez l'Homme, alors que les courses sont régies par des codes propres à chaque discipline (course de trot et course de galop). Cependant, les deux approches restent similaires et mettent en jeu des contrôles identiques (Lambolez 2011)

### **2.3.1 Les organisations de la lutte contre le dopage dans les courses hippiques**

#### À l'échelle nationale

En France, pour ce qui est des courses hippiques, la lutte contre le dopage repose sur le principe qu'un cheval ne doit pas concourir sous médication et le mot d'ordre est le suivant : « tout est interdit sauf ce qui ne l'est pas » (Meuly 2019).

Les courses de galop obéissent à la réglementation inscrite dans le code des courses de galop qui est édité par la société mère « France Galop ». Les courses de trot quant à elles sont réglementées par le code des courses du trot établi par la « Société d'encouragement à l'Élevage du Trotteur Français » (SETF).

Ces deux sociétés mères sont chapeautées par la Fédération Nationale des Courses Hippiques (FNCH). Les Ministères de l'Agriculture et de l'Intérieur exercent un tutorat partagé sur la FNCH. Ils veillent à l'homogénéité des dispositions votées par les comités des deux disciplines et leurs accords sont indispensables pour l'entrée en vigueur de ces dispositions (Meuly 2019; Lambolez 2011).



Figure 3: Logo de la Société du Trotteur Français



Figure 2 : Logo de France Galop

### A l'échelle européenne :

De nombreux pays se sont inspirés du cadre français. En 1992, les commissaires de courses français, anglais et irlandais créent le *European Horserace Scientific Liaison Committee* (EHSLC). Cette organisation a pour objectif d'harmoniser les méthodes d'analyses et d'encourager la coopération entre les chercheurs afin de mieux appréhender l'arrivée de nouvelles substances sur les champs de courses. Par la suite, les autorités hippiques d'Allemagne, d'Italie et des pays scandinaves rejoignent l'EHSLC (Meuly 2019).



Figure 4: Logo de la "European Horserace Scientific Liaison Committee"

### A l'échelle mondiale

L'instance internationale qui supervise et réglemente les courses de chevaux à l'échelle mondiale est l'*International Federation of Horseracing Authorities* (IFHA). Elle a été fondée en 1993 et établit des normes, des règles et des lignes directrices pour les courses. Cependant, en ce qui concerne la lutte antidopage, l'organisation se heurte à plusieurs défis dans son effort d'harmonisation des règlements. En effet, chaque pays possède son propre cadre juridique antidopage, dont certains sont plus permissifs que d'autres de par les différences culturelles, légales et historiques. Les États-Unis et l'Australie, par exemple, possèdent des procédures analytiques principalement quantitatives et admettent la possibilité de concourir sous médication. D'autre part, certains médicaments, notamment les diurétiques, sont interdits lors des courses dans la plupart des pays européens alors qu'ils sont autorisés avant et après les courses aux États-Unis (Toutain 2005).



Figure 5: Logo de la "International Federation of Horseracing Authorities"

### **2.3.2 Les organisations de la lutte contre le dopage dans les sports équestres**

Les moyens financiers déployés dans la lutte contre le dopage dans les sports équestres sont moins importants que pour les courses hippiques. Les enjeux sportifs sont les mêmes, cependant les enjeux financiers des sports équestres sont bien moindres que ceux des courses en l'absence de paris. Ainsi les contrôles sont plus intenses dans les épreuves de haut niveau, plus exposées en termes d'image et mettant en jeu des dotations plus conséquentes, alors que les épreuves de faible niveau sont beaucoup moins contrôlées (Grison, Duluard 2015).

Les fonds de la lutte contre le dopage sont alimentés par un prélèvement sur chaque engagement en compétition : les frais MCP (Mesures de Contrôles de Performance) (FFE 2018). Cependant, le montant total reste assez faible et ne permet pas un taux de chevaux contrôlés comparables à celui des courses hippiques (Lambolez 2011).

#### À l'échelle nationale

En France, la lutte contre le dopage dans les sports équestres est gérée par l'AFLD en collaboration avec la Fédération Française d'Équitation (FFE) (Dr Masson, Martinet M 2018) Cette dernière a été créée en 1952 pour régir et superviser l'ensemble des activités liées aux sports équestres en France et représenter le pays au niveau international dans les sports équestres.

La liste des substances interdites est fixée par l'arrêté du 2 mai 2011 relatif aux substances et aux procédés mentionnés à l'article L. 241-2 du code du sport (*Arrêté du 2 mai 2011 relatif aux substances et aux procédés mentionnés à l'article L. 241-2 du code du sport* 2011).

#### À l'échelle internationale

La Fédération Equestre Internationale (FEI) est l'unique autorité contrôlant les événements équestres internationaux. Celle-ci a été créée en 1921 pour établir des normes internationales et encourager la coopération entre les différentes nations dans le domaine des sports équestres.

La création de la FEI répond à une nécessité précoce de coordination mondiale dans le domaine équestre, tandis que la FFE fut établie plus tard pour réguler spécifiquement les activités équestres au niveau national en France.

La réglementation actuelle, *Equine AntiDoping Controlled Medication Rules* (EADCMR), a été mise en application à partir de 2010. Elle fait suite aux nombreux cas de dopage des Jeux olympiques de 2008 et venait clarifier les règles concernant le dopage et les substances médicamenteuses. Les EADCMR présentent deux axes : les règles anti-dopage équines (*Equine Anti-Doping Rules*) qui concernent les substances interdites et les règles sur le contrôle des médicaments équines (*Equine controlled medication rules*) qui concernent les substances contrôlées (Meuly 2019).

## **2.4 La nouvelle approche européenne et la distinction entre le contrôle antidopage et le contrôle des médicaments**

Ces dernières années, les autorités des sports équestres et des courses hippiques ont souligné l'importance de distinguer le contrôle des substances totalement interdites de celui concernant des médicaments légitimement utilisés pour traiter un cheval malade.

Désormais, on parle moins de contrôle antidopage, mais de contrôle des médicaments. Cette distinction a conduit à adopter deux logiques différentes dans les contrôles réalisés : d'une part le contrôle de l'exposition qui vise à détecter la présence ou l'absence chez le cheval de produits bannis ; d'autre part le contrôle des effets pour les médicaments utilisables dans le cadre des bonnes pratiques professionnelles (Toutain 2005).

Les substances sont donc classées en catégories. On distingue d'une part les substances prohibées de celles qui ne le sont pas.

### **2.4.1 Les substances prohibées (Lamblez 2011; Meuly 2019; Barboussat 2007)**

Dans les substances prohibées, on distingue les substances interdites et les substances contrôlées.

#### **Les substances interdites**

Une substance interdite est une substance dont l'utilisation n'est pas autorisée chez le cheval. Ce sont les substances qui sont considérées comme ayant une action propre à modifier les performances du cheval au cours d'un effort. Elles englobent des classes pharmacologiques entières notamment les substances anabolisantes, les hormones peptidiques et facteurs de

croissance et assimilés, les hormones et modulateurs métaboliques. Toute autre substance ayant une structure chimique ou un effet biologique similaire à ces molécules est également interdite.

### Les substances contrôlées

Les substances contrôlées sont des molécules qui font partie de l'arsenal thérapeutique classique chez le cheval, mais qui demeurent interdites lors de courses ou de compétitions puisqu'un cheval sous traitement n'a pas sa place en compétition. Le cheval peut reprendre les compétitions une fois les effets thérapeutiques disparus.

L'évolution aussi bien des molécules disponibles que des méthodes de chimie analytique imposent de réviser chaque année cette liste. De la même façon, il existe des listes de substances contrôlées ou « controlled medication substances » propres à chaque organisation.

#### **2.4.2 Les substances spécifiées et non spécifiées**

En 2003, les notions de substances spécifiées et non spécifiées ont été introduites avec l'apparition de la première version du Code Mondial Antidopage (CMA) publiée par l'Agence Mondiale Antidopage (*Liste des interdictions 2022*).

Ces notions ont été mises en place pour apporter une nuance dans la réglementation antidopage et pour moduler les sanctions, car toutes les substances interdites ne sont pas nécessairement utilisées intentionnellement pour améliorer les performances, elles peuvent être présentes dans l'organisme du cheval pour des raisons médicales légitimes ou par inadvertance.

Les substances spécifiées restent des substances interdites mais sont moins susceptibles d'être utilisées à des fins d'amélioration des performances du cheval. Ainsi en cas de détection, des sanctions peuvent être moins sévères, que pour les substances plus traditionnellement utilisées en vue de dopage peuvent être appliquées.

À l'inverse, les substances non spécifiées sont des substances interdites plus conventionnelles et plus souvent associées à des tentatives délibérées d'amélioration des performances du cheval. Ces substances sont généralement considérées comme ayant un potentiel plus élevé pour améliorer les performances et sont souvent soumises à des sanctions plus sévères en cas de détection dans le système d'un cheval pendant une compétition.

Les commissaires des sociétés mères des courses se sont accordés sur des seuils internationaux définis par des analystes et des vétérinaires officiels pour ces substances prohibées, mais présentes dans l'environnement de l'animal. Pour ces substances spécifiées, les substances présentes à des concentrations inférieures aux seuils ne donnent pas lieu à poursuite. Cette liste est consultable sur le site de la FEI et de la FFE, et varie légèrement de celle de *l'Association of Racing Commissioners International* (ARCI) (Meuly 2019).

### **2.4.3 Les substances exclues de la liste des substances prohibées**

Certaines molécules n'appartiennent pas à la liste des substances prohibées, car elles ne possèdent pas de propriétés qui seraient de nature à remettre en cause l'équité sportive. Parmi ces substances on peut citer les :

- Substances antiparasitaires strictes à l'exception du *lévamisole* en raison de ses propriétés immunostimulantes
- Substances anti-infectieuses strictes à l'exception des tétracyclines, des macrolides, des céphalosporines, des quinolones, ainsi que des mélanges contenant d'autres substances (anti-inflammatoires ou anesthésiques locaux)
- Vaccins (Cazeau et al. 2022; Meuly 2019).

## **2.5 Contrôle de l'exposition et contrôle des médications, principe général (Toutain, Lassourd 2002)**

Dans le contrôle de l'exposition, il s'agit uniquement de détecter l'absence ou la présence des substances interdites. Il repose donc sur des méthodes analytiques les plus sensibles possible. Ainsi le seul facteur limitant réside dans la performance des techniques analytiques. Les laboratoires sont donc amenés à améliorer leur niveau de détection pour tracer ces molécules en quantités infimes. Cette approche ne nécessite pas de jugement biologique et scientifique quant à la signification des concentrations mesurées.

À l'inverse, le contrôle des médications repose sur la recherche d'une substance médicamenteuse à concentration efficace lors des épreuves. Ainsi, ce sont les effets pharmacodynamiques d'un traitement qui sont condamnés. Les effets sont évalués par les concentrations plasmatiques ou urinaires des molécules d'intérêt. Cette approche repose sur la

démonstration de Toutain et Lassourd (2002). Elle établit qu'il existe une relation quantitative et causale entre les concentrations plasmatiques et les effets pour les médicaments ayant des effets systémiques. Le contrôle des médications repose sur la relation entre les concentrations mesurées et les effets, car avec les méthodes d'analyses actuelles on peut détecter des molécules en quantité infime, mais qui n'ont plus d'effets cliniques résiduels (Meuly 2019; Toutain, Lassourd 2002). Cette approche de contrôles nécessite donc de connaître les concentrations maximales que l'on autorise et en dessous desquelles on considère que les effets de la substance ne sont plus présents.

### Les limites de cette approche

Cependant, l'approche de contrôle des médications présente certaines failles. Certains cavaliers utilisent des mélanges de plusieurs anti-inflammatoires non stéroïdiens différents et faiblement dosés. Les concentrations individuelles de chacun sont alors insuffisantes pour avoir un effet clinique, cependant leur action cumulative rend le mélange efficace. Ainsi l'établissement de concentration maximale autorisée dans le cadre du contrôle des médications présente des limites (Bruyas 2013)

D'autre part, la démonstration Toutain-Lassourd concerne les substances administrées par voie systémique pour lesquelles l'exposition plasmatique est une variable explicative des effets. Dans le cas d'une injection intra-articulaire d'anti-inflammatoires stéroïdiens, la dose administrée localement est faible, mais permet un effet clinique marqué alors que la concentration circulante de la molécule est plus faible que pour une injection par voie générale d'une dose produisant le même effet clinique (Bruyas 2013; Toutain 2005).

### La détermination des concentrations maximales autorisées et du temps de détection

Il existe deux méthodes pour déterminer des concentrations maximales autorisées : la méthode Toutain-Lassourd et l'approche expérimentale.

- La méthode Toutain Lassourd (Toutain, Lassourd 2002)

La méthode développée par Toutain et Lassourd en 2002 est une approche pharmacodynamique générale et non expérimentale pour la détermination de l'IPC (*irrelevant drug plasma concentration*) et de l'IUC (*irrelevant drug urine concentration*).

L'IPC et l'IUC sont définies respectivement comme les concentrations plasmatique et urinaire à partir desquelles on peut affirmer qu'il n'y a plus d'effet résiduel. Elles sont calculées à partir des données de la littérature, la plupart du temps issues de méta-analyses.

À partir de la clairance plasmatique et de la dose administrée d'une molécule, il est possible de déterminer une EPC (*Effective Plasma concentration*) qui correspond à une concentration plasmatique efficace. Le passage d'une EPC à l'IPC se fait par l'application d'un facteur de sécurité (souvent désigné SF). Celui-ci doit d'une part prendre en compte la diminution de la concentration plasmatique de la substance jusqu'à l'absence d'effet et d'autre part tenir compte des variabilités inter et intra individuelles des paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques.

Pour tenir compte du passage d'une concentration plasmatique active à inactive, on applique un facteur 50. Pour fixer la valeur de ce facteur, il est considéré que les posologies thérapeutiques recommandées sont des doses efficaces à 50% (DE50), c'est-à-dire des doses permettant d'atteindre 50% de l'effet maximum possible du médicament. Avec ce postulat, en divisant la DE50 par 50, on obtient une DE2, soit une dose qui permet d'obtenir 2% de l'effet maximal.

La variabilité inter et intra-individuelle est classiquement prise en compte par un facteur de variation d'une valeur de 3. En prenant en considération à la fois les variations pharmacocinétique et pharmacodynamique, on obtient alors un facteur de variation de  $3 \times 3 = 9$  que l'on arrondit à 10.

Ainsi le facteur de sécurité est fixé à une valeur de 500 ( $50 \times 10$ ) dans la publication originale de Toutain et Lassourd.

La méthode Toutain Lassourd permet de déterminer, pour toute substance ayant une clairance définie et avec une approche pharmacocinétique et pharmacodynamique non expérimentale, une concentration maximale autorisée. Celle-ci permet ensuite de définir un temps de détection, c'est-à-dire un temps pendant lequel la substance va être détectable et en concentration supérieure à l'IPC.

- L'approche expérimentale

L'approche expérimentale est une autre façon d'appréhender le temps de détection d'une substance. Elle repose sur le suivi des cinétiques d'éliminations plasmatiques et urinaires d'une

substance suite à son injection à la dose recommandée chez plusieurs chevaux. Celles-ci permettent d'extrapoler un temps de détection de manière plus précise.

## **2.6 Les prélèvements biologiques dans le cadre des contrôles**

Les prélèvements biologiques sont réalisés selon les mêmes démarches que ce soit pour les courses de trot ou les courses de galop et sont dictés respectivement par le code des courses de trot et le code des courses de galop. Les procédures sont identiques dans les sports équestres hormis les autorités impliquées dans le choix des animaux testés.

Pour ce qui est des courses hippiques, les prélèvements peuvent être décidés par les Commissaires de France Galop ou de la Société d'Encouragements du Cheval Français (SECF) ou bien par les commissaires des courses, sur tout cheval déclaré partant qu'il participe ou non à la course. Dans les sports équestres, ce sont la FEI ou les fédérations nationales qui sont responsables lors des manifestations nationales de déterminer les chevaux à tester.

La décision est notifiée au représentant de l'équidé (entraîneur, propriétaire ou autre représentant) qui doit alors mettre à disposition son cheval au vétérinaire mandaté à cet effet. Les opérations de prélèvement sont effectuées sous la responsabilité d'un vétérinaire agréé par la FNCH ou la FEI, éventuellement assisté par des aides placés sous son autorité (SETF 2023; France Galop 2023a; FEI 2022a).

Elles sont réalisées dans un box réservé au contrôle anti-dopage, situé dans un endroit calme au sein de l'espace de séjour des chevaux lors de la compétition. Le box ne contient pas de mangeoire et doit être propre et fraîchement paillé pour éviter les contaminations. Le cavalier ou jockey est informé des prélèvements en sortie d'épreuve et dispose de trente minutes avant de se rendre au lieu de prélèvement pour effectuer le pansage de sa monture hors d'un box et sous la surveillance d'un membre de l'équipe de prélèvement (Meuly 2019). À l'arrivée du cheval, accompagné par son responsable sur le lieu des opérations, le signalement du cheval est alors vérifié par le vétérinaire. Les échantillons sont ensuite acheminés à un laboratoire agréé sous scellé (SETF 2023; France Galop 2023a; FEI 2022a).

Les prélèvements peuvent être effectués sur tout cheval déclaré à l'élevage, au repos, déclaré à l'entraînement, venant d'un autre pays et qui stationne provisoirement en France, ou

encore entraîné temporairement en France en vue de participer à une course régie par le code des courses de trot ou de galop. Dans les sports équestres, tout cheval enregistré auprès de la FEI ou d'une fédération nationale, ou en compétition à un événement international, un événement ou une compétition nationale ou à une toise des poneys FEI pourra être soumis à des contrôles en compétition par la FEI, ou par toute autre organisation antidopage responsable des contrôles de ces événements (FEI 2022a).

Afin d'harmoniser les démarches de prélèvement, le laboratoire met à disposition des kits de prélèvements. Le matériel fourni est chimiquement neutre, à usage unique et conditionné dans des sachets plastiques thermosoudés. De plus, le laboratoire fournit un collecteur d'urine qui n'est pas contenu dans le kit, mais est scellé dans un sachet plastique.

L'urine est l'un des fluides le plus approprié pour les prélèvements, car sa collecte est peu invasive, relativement simple et offre un volume satisfaisant. Le recueil doit s'effectuer lors d'une miction naturelle et volontaire sans sondage ni ponction ou utilisation de diurétiques. Le volume optimal pour les échantillons est de 120 mL.

Le prélèvement sanguin permet, d'une part, de retrouver plus facilement les substances de fort poids moléculaire comme les peptides qui sont très peu éliminés dans les urines et, d'autre part, d'apporter des compléments d'information aux résultats urinaires. La quantité de sang à ponctionner dépend notamment du volume d'urine récolté. Effectivement, si la quantité d'urine recueillie est supérieure à 120 mL, le vétérinaire prélèvera du sang sur trois tubes héparinés de 10mL et, si la quantité d'urine prélevée est inférieure à 120 mL, six tubes seront recueillis (Barboussat 2007). Le prélèvement sanguin est réalisable à tout moment par ponction de la veine jugulaire et doit être effectué de façon aseptique par un vétérinaire agréé. Cependant, il reste plus invasif que les prélèvements d'urine, c'est pourquoi il a longtemps été controversé (Lambolez 2011).

Lors des prélèvements, les échantillons sont prélevés de sorte à garder un doublon. L'échantillon A sera analysé en première intention et un échantillon B est conservé jusqu'à 10 ans (*Le nouveau praticien vétérinaire équine - Dossier : dopage et lutte anti-dopage* 2021).



Figure 6: Kit de prélèvement sanguin et urinaire (Lambolez 2011)

## 2.7 Les analyses des prélèvements(Lambolez 2011; Meuly 2019)

Les échantillons à analyser sont identifiés par un numéro correspondant au procès-verbal dressé lors du prélèvement de l'échantillon puis renumérotés par le laboratoire afin de conserver l'anonymat. Avant toute analyse, une vérification du scellement de tous les éléments est réalisée.

L'analyse comprend plusieurs étapes :

- **L'extraction** : son objectif est d'éliminer les composants parasites du milieu biologique prélevé ; il existe plusieurs techniques : l'extraction liquide-liquide et l'extraction liquide-solide qui est la plus récente et la plus développée actuellement.
- **Le screening ou criblage** : il permet la mise en évidence rapide de la présence d'une substance prohibée et se fait généralement par chromatographie liquide ou gazeuse couplée à la spectrométrie de masse ou des tests immunologiques de groupe avec utilisation d'anticorps spécifiques aux substances recherchées.
- **La confirmation** : elle permet d'apporter avec certitude l'identité, et donc la présence, et dans certains cas la quantité des substances révélées lors de la phase précédente ; elle fait appel à la spectrométrie de masse, car cette méthode fournit «une empreinte digitale» de la molécule et présente une grande fiabilité de diagnostic.

Ainsi, si suite au « screening », l'échantillon A ressort négatif, l'échantillon B est détruit et alors le cheval testé est considéré comme négatif.

En revanche, si l'échantillon A est positif (ou douteux), l'échantillon B est conservé pour une éventuelle contre-expertise.

### 3 Triméthoprime - sulfadoxine : une association d'antibiotiques large spectre fréquemment utilisée

#### 3.1 L'histoire des sulfamides et du triméthoprime

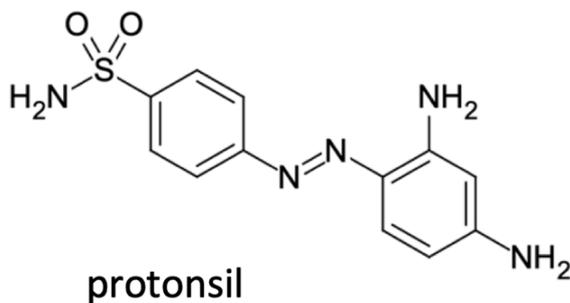


Figure 7: Structure chimique du Protosil

Les sulfamides ont été mis au point suite à la découverte, dans les années 1930, de l'effet protecteur du Protosil ND contenant du chlorhydrate de sulfamidochrysoïdine (figure 7). C'est un composé de couleur orange vif, mis au point par la compagnie I.G Farben, en tant que colorant industriel pour les teintures de laine et de cuir. C'est en 1932 que le scientifique Gerhard Domagk montre que le Protosil ND protégeait les souris contre des charges létales de streptocoques hémolytiques et que ce résultat était reproductible chez l'Homme avec la même efficacité. Les résultats *in vitro* ont permis de démontrer que le Protosil ND devait être métabolisé en un sulfanilamide pour être actif (Rang, Dale 1987).

Les sulfamides ont un intérêt thérapeutique beaucoup plus large que le traitement des infections à streptocoques. En effet, certains diurétiques (acetazolmides et thiazides), tuberculostatiques, agents anti-leprotiques (sulphones) et agents hypoglycémiants ont été mis au point à partir de la structure chimique de base des sulfamides (Rang, Dale 1987).

Le triméthoprime, quant à lui, a été mis au point plus tard, dans les années 1960, par George Hitchings et Gertrude Elion, pour le traitement des méningites, des septicémies et des infections urinaires chez l'Homme (Gertrude Elion 2023).

L'association triméthoprime et sulfamides est utilisée en médecine vétérinaire depuis les années 1970 (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994). La sulfadoxine, molécule utilisée dans cette étude, est un sulfamide longue action mis au point par le groupe F. Hoffmann-La Roche & Co dans les années 1980 (Kapoor 1988).

## 3.2 Propriétés pharmacodynamiques

### 3.2.1 Mécanisme d'action

Les sulfamides sont des analogues de structure de l'acide para-aminobenzoïque (PABA) qui est un élément essentiel pour la synthèse d'acide folique (figure 8). Or l'acide folique est nécessaire à la synthèse d'ADN et d'ARN, que ce soit chez les bactéries ou les mammifères, car il intervient, après activation, en tant que cofacteur dans la

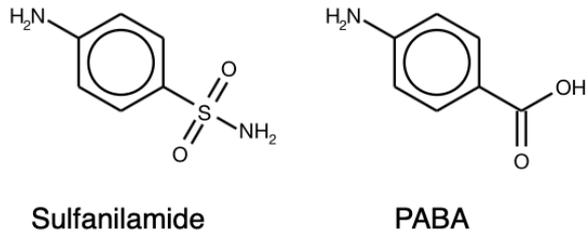


Figure 8: Mise en évidence de l'analogie de structure de la sulfanilamide et de l'acide para-aminobenzoïque (PABA).

synthèse des purines et des pyrimidines. Ainsi par leur analogie structurelle les sulfamides agissent par compétition sur l'enzyme hydroptéroate synthase (figure 9) qui permet la production d'acide folique. Cependant les mammifères ne synthétisent pas l'acide folique, ils le puisent dans leur alimentation et l'acide folique rentre dans les cellules grâce à des transporteurs membranaires. Les sulfamides n'ont donc pas d'effet chez eux. A l'inverse, les bactéries ne sont pas équipées de transporteurs membranaires permettant l'entrée de l'acide folique, elles ne peuvent donc pas utiliser l'acide folique présent dans les cellules ou la circulation sanguine des mammifères (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994).

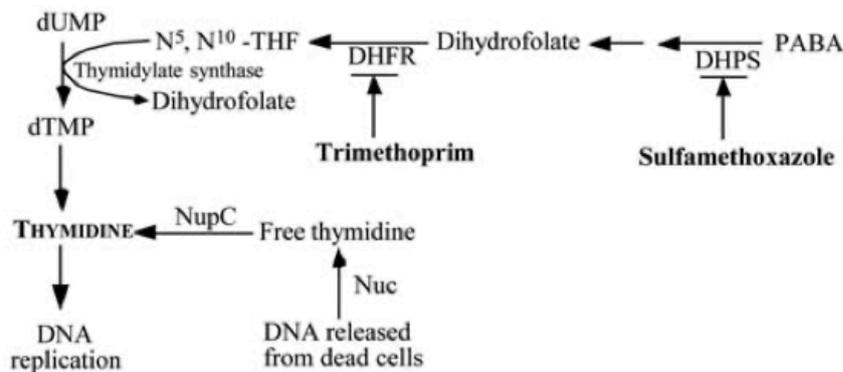


Figure 9: Antagonistes des folates dans la synthèse de la thymidine.

#### Légende

**DHFR** : Dihydrofolate réductase ;  
**DHPS** : Dihydroptéroate synthase ;  
**dTMP** : deoxythymidine 5'-phosphate ; **dUMP** : déoxyuridine monophosphate ; **Nuc** : Thermocléase ; **NupC** : protéine de transport des nucléosides ; **PABA** : Acide para-aminobenzoïque ; **THF** : Tétrahydrofolate.

#### Légende

Pour jouer son rôle de co-facteur, l'acide folique subit deux réductions par la dihydrofolate réductase pour donner le tétrahydrofolate. Le triméthoprime intervient lors de cette étape par inhibition de la dihydrofolate réductase (figure 3). L'activation de l'acide folique

par ces deux réductions est une voie chimique commune aux mammifères et aux bactéries, cependant la dihydrofolate réductase des bactéries est bien plus sensible au triméthoprimine que celle des mammifères, comme on peut le voir (Tableau 1) avec une IC50 pour la dihydrofolate réductase bien plus élevée chez l'Homme (Rang, Dale 1987).

Tableau 1: Comparaison de l'activité du Triméthoprimine pour la dihydrofolate réductase (FH2) chez l'Homme et la bactérie (Rang, Dale 1987)

Inhibiteur	IC 50 (µM) pour FH <sub>2</sub> réductase	
	Homme	Bactérie
Triméthoprimine	260	0,05

Les sulfamides et le triméthoprimine agissent donc sur deux étapes successives du métabolisme des folates et de ce fait se potentialisent (Rang, Dale 1987) et présentent un spectre élargi aux bactéries Gram négatif et positif aérobies (Figure 9). De par leur mode d'action, ils agissent par inhibition de la croissance des bactéries, ce sont donc des agents bactériostatiques et temps dépendants (Rang, Dale 1987).

### 3.2.2 Propriétés chimiques

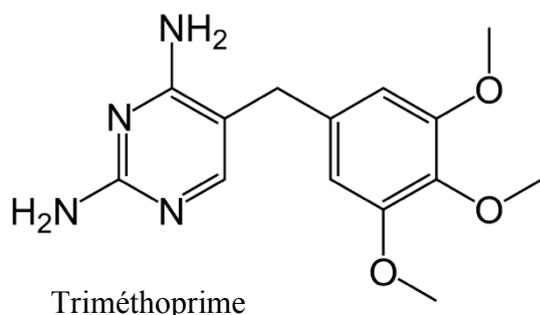


Figure 10: Structure chimique du Triméthoprimine

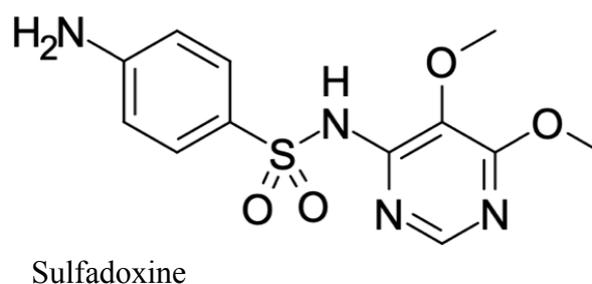


Figure 11: Structure chimique de la Sulfadoxine

Le triméthoprimine, de formule chimique C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>, appartient à la famille des diaminopyrimidines comme on peut le voir sur sa structure représentée en figure 10. C'est une base faible de pKa 7,1, liposoluble, faiblement hydrosoluble et de faible poids moléculaire lui permettant une bonne diffusion dans les tissus et à travers les membranes.

Les sulfamides, dont la sulfadoxine de formule chimique C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S représentée sur la figure 11, sont des acides faibles (Tableau 2) et sont plus hydrophiles que le triméthoprimine (Rang, Dale 1987; Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994) et sont d'autant plus solubles dans l'eau

que leur pKa est élevé (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994). Ils sont la plupart du temps utilisés sous leur forme de sel de sodium pour les formulations injectables car elle est soluble dans l'eau (Rang, Dale 1987).

### **3.3 Propriétés pharmacocinétiques**

#### **3.3.1 Absorption**

Les sulfamides peuvent être administrés par voie orale, intraveineuse, intrapéritonéale, intramusculaire, intra-utérine ou locale selon la molécule et la formulation. Pour la plupart d'entre eux l'absorption est complète et relativement rapide dans le tube digestif du cheval (A. Mercer 2022) et n'est pas influencée par la prise de nourriture (Sigel et al. 1981; Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994).

Le triméthoprim est complètement absorbé quand il est administré par voie orale. Son absorption est plus rapide que celle des sulfamides, il atteint par conséquent son pic de concentration plasmatique plus rapidement après ingestion (A. Mercer 2022). Le triméthoprim atteint sa concentration plasmatique maximale 45 minutes après l'administration par voie orale, contre 6 heures après l'administration pour le sulfaméthoxazole d'après une étude menée sur six juments (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994).

L'absorption suite à une injection par voie intramusculaire est plus lente qu'après une administration *per os* de triméthoprim (concentration plasmatique maximale en triméthoprim atteinte 200 minutes après l'injection de 5,5mg/kg de triméthoprim par voie intramusculaire dans le muscle pectoral, contre 90 minutes après l'administration par voie orale). Ce pic retardé pourrait s'expliquer par l'irritation locale au site d'injection et la précipitation du médicament (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994).

#### **3.3.2 Distribution**

Les sulfamides étant hydrophiles, leur distribution se fait principalement par les fluides extracellulaires (sang, lymphe, liquide interstitiel) (A. Mercer 2022). Selon les molécules le volume de distribution peut aller de 0,3L/kg à 0,7L/kg. Les sulfamides sont retrouvés en grande quantité dans les tissus fortement vascularisés : foie, reins, duodénum, poumons. Dans la

plupart des tissus, les concentrations tissulaires en sulfamides restent inférieures aux concentrations plasmatiques (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994).

Le triméthoprime étant plus lipophile, il diffuse facilement dans les tissus et présente donc un volume de distribution élevé qui peut aller de 1,5 à 2,7 L/kg selon les études (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994). Les concentrations les plus importantes en triméthoprime se trouvent dans le foie, les reins et les poumons, et de manière générale, la concentration tissulaire en triméthoprime est plus élevée que sa concentration plasmatique.

Le triméthoprime et le sulfaméthoxazole peuvent traverser la barrière hémato-encéphalique et atteignent des concentrations supérieures à la concentration minimale inhibitrice de la plupart des pathogènes équin responsables de méningites.

Chez le cheval 50% du triméthoprime est lié aux protéines plasmatiques quelle que soit sa concentration. Pour les sulfamides, ce taux peut varier en fonction de la molécule et de sa concentration, il varie entre 33 % pour le sulfaphénazole et 93% pour la sulfadiméthoxine (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994) (Tableau 2).

*Tableau 2: Valeurs pharmacocinétiques du Triméthoprime et des certains sulfamides chez les chevaux (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994)*

Antibiotique	pKa	T1/2 (h)	Vd (L/kg)	Cl (mL/kg/min)	Pourcentage lié au protéines plasmatiques (%)
<b>Triméthoprime</b>	7,1	1,9 à 4,3	1,51 à 2,76	11 à 13	50
<b>Sulfadiazine</b>	6,4	2,7 à 7,4	0,4 à 0,52	2,3	43
<b>Sulfadoxine</b>	6,3	6,3 à 14	0,39	9,7	14 à 72
<b>Sulfaméthoxazole</b>	5,7	3,5 à 4,8	0,33 à 0,5	1,3 à 1,4	Absence de données
<b>Sulfaméthazine</b>	7,4	5,4 à 11,4	0,33 à 0,74	0,8 à 0,9	65 à 69
<b>Sulfamérazine</b>	7,0	3,2	0,49	1,8	44

### 3.3.3 Métabolisme (M)

Le foie est le principal organe de métabolisation du triméthoprime et des sulfamides (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994).

Les sulfamides peuvent être métabolisés par des réactions de phase 1 (oxydation) et de phase 2 (acétylation, glucurono-conjugaison ou sulfatation) selon l'espèce. Les formes acétylées, hydroxylées ou glucurono-conjuguées ont une action antibactérienne nettement moins

importantes que les composés initiaux. Chez le cheval, les sulfamides subissent une acétylation du groupe para-amine (N<sub>4</sub>) et une hydroxylation du groupe méthyl du cycle pyrimidine. Les réactions d'hydroxylation et de glucuroconjugaison augmentent l'hydrophilie du métabolite et favorisent son élimination rénale (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994).

La voie métabolique du triméthoprimine chez le cheval n'a pas encore été établie et reste peu documentée. Chez l'Homme, le triméthoprimine est oxydé et conjugué. Ses métabolites primaires sont le 1-N-oxyde de triméthoprimine, le 3-N-oxyde de triméthoprimine, le 3'-des-méthyl-triméthoprimine, le 4'-desméthyl-triméthoprimine, et le  $\alpha$ -hydroxy-triméthoprimine (figure 12), cependant ils ne sont que très peu actifs sur les bactéries (Nolte, Tessman, Goldman 2020). Chez le porc, la principale voie métabolique comprend une déméthylation suivie d'une conjugaison avec acide glucuronique ou un sulfate (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994).

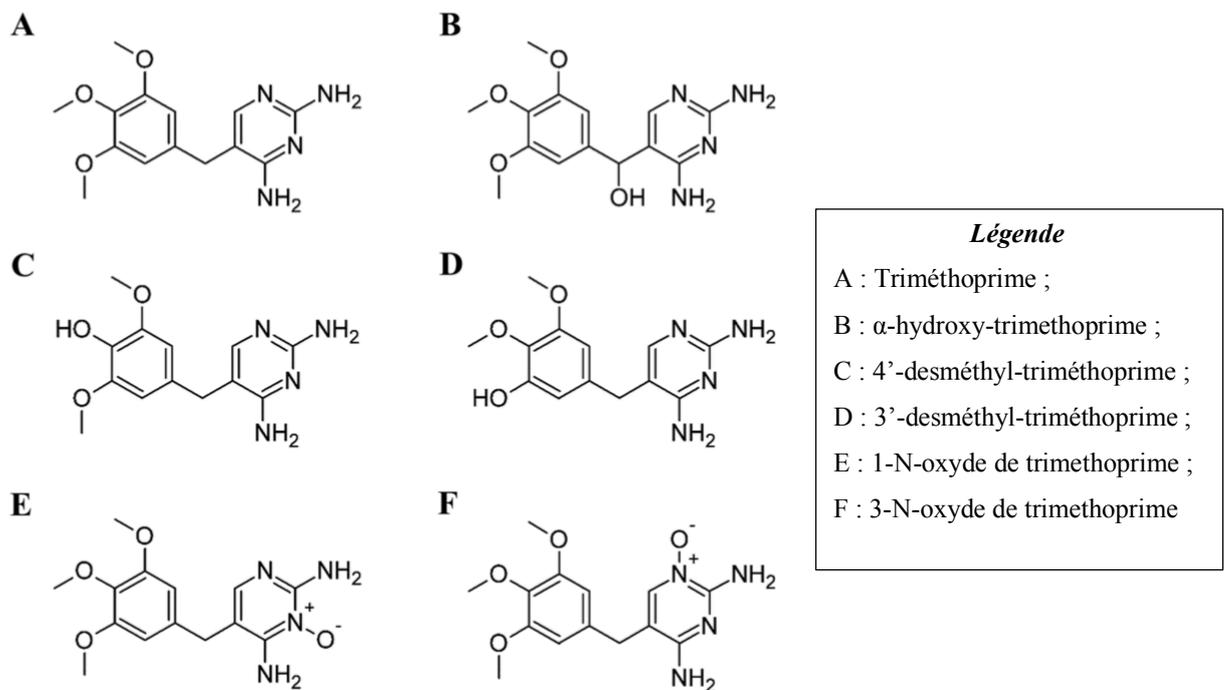


Figure 12: Structures chimiques des métabolites primaires du triméthoprimine chez l'homme

### 3.3.4 Excrétion du principe actif et de ses métabolites

Les sulfamides sont principalement excrétés dans les urines, mais peuvent aussi l'être dans les fèces, la bile, le lait, la transpiration et les larmes. Quant à leurs métabolites, chez l'homme ils sont éliminés dans les urines (García-Galán, Silvia Díaz-Cruz, Barceló 2008). Le

triméthoprime est lui majoritairement excrété par voie urinaire, on le retrouve aussi en petite quantité dans les fèces.

L'excrétion rénale du triméthoprime se fait par filtration glomérulaire et sécrétion active au niveau des tubules rénaux puis réabsorption. Celle des sulfamides met en jeu la filtration glomérulaire et la réabsorption (Rang, Dale 1987).

Le triméthoprime est une base faible, son élimination par les reins augmente avec l'acidité urinaire. Les sulfamides étant des acides faibles leur élimination suit la tendance inverse. La clairance rénale de ces deux molécules est donc influencée par le pH urinaire (Rang, Dale 1987).

Chez le cheval, le temps de demi-vie du triméthoprime est de 1,9 à 4,3 h selon les études. Il varie entre 2,7h (sulfadiazine) et 14h (sulfadoxine) pour les sulfamides selon les molécules (Tableau 2) (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994).

### **3.4 Résistances**

Des résistances au triméthoprime et aux sulfamides se sont développées lentement au cours des années. En médecine vétérinaire équine, de nombreuses bactéries résistantes ont été identifiées notamment certaines souches de salmonelles et de streptocoques, certaines souches de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Les résistances résultent notamment de l'exposition de la flore commensale aux antibiotiques et sont plus importantes dans les milieux hospitaliers (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994; Cazeau et al. 2022; Steinman, Navon-Venezia 2020).

Il existe différents mécanismes de résistances pour le triméthoprime. La résistance peut être due à une mutation génétique qui entraîne une modification ou une surproduction de l'enzyme dihydrofolate réductase, dans ce cas on parle de résistance chromosomique. Mais elle peut également être codée par un gène porté par un transposon ou un plasmide qui permet à la bactérie de produire une autre enzyme dihydrofolate réductase pour laquelle le triméthoprime n'a pas d'affinités (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994).

Les résistances aux sulfamides sont plus répandues que celles du triméthoprime. Elles peuvent être codées par le chromosome ou des plasmides. La résistance chromosomique entraîne une

surproduction d'acide para amino-benzoïque et la synthèse d'une dihydropteroate synthase avec moins d'affinité pour les sulfamides. La résistance plasmidique permet la synthèse d'une deuxième enzyme dihydropteroate synthase insensible aux sulfamides. La résistance acquise à un sulfamide est généralement associée à une résistance croisée à tous les sulfamides (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994).

### **3.5 Utilisation clinique**

L'association triméthoprim-sulfamide est principalement utilisée pour le traitement des infections des voies respiratoires, de l'appareil urinaire et génital, de la peau et des articulations (Tableau 3). La bonne diffusion de ces antibiotiques dans le liquide cébrospinal les rend intéressants pour le traitement des méningites, même s'ils ne sont pas utilisés en première intention la plupart du temps. La posologie recommandée est de 15 à 30mg/kg toutes les 12 à 24 heures par voie orale ou intra-veineuse (Giguère, Prescott, Dowling 2013).

D'après le bilan de 2021 du Résapath (Cazeau et al. 2022), les principales bactéries rencontrées dans les infections chez le cheval sont les *Streptococcus* spp (30% des prélèvements), les *Escherichia coli* (20% des prélèvements), les *Pseudomonas* spp (10% des prélèvements) et les *Staphylococcus* à coagulase positive (9% des prélèvements). Le tableau 3 récapitule les affections dans lesquelles il est indiqué d'utiliser l'association triméthoprim-sulfamide en première intention ou comme alternative.

*In vitro*, le ratio optimal pour la synergie et l'efficacité antibactérienne du triméthoprim et du sulfamide est de 1/19 (triméthoprim / sulfamide). En médecine humaine, les médicaments ont un ratio de doses de 1/5 afin d'atteindre le ratio optimal de concentrations de 1/19 dans le plasma après absorption. Le ratio de doses de 1/5 a été adopté en médecine vétérinaire mais il n'est pas certain qu'un ratio de concentrations de 1/19 soit atteint chez tous les animaux avec tous les sulfamides. Par ailleurs, il n'y a pas de consensus sur le ratio optimal plasmatique à atteindre chez les différentes espèces (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994; Delizy 2004).

Tableau 3: Indication d'utilisation de l'association Triméthoprime-sulfamide chez le cheval selon les affections (Giguère, Prescott, Dowling 2013; Wilson 2001; Mitchell, Furr, McKenzie 2006)

<b>Localisation</b>	<b>Diagnostic</b>	<b>Bactéries/Agents infectieux communément impliqués</b>
<b>Appareil respiratoire haut</b>	Sinusite primaire (ou secondaire)	<i>Streptococcus equi zooepidemicus</i> <i>Pasteurella spp</i> <i>Mycoplasma spp</i>
	Pneumonie	<i>Streptococcus equi zooepidemicus</i> <i>Actinobacillus suis like sp</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Pasteurella spp</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Mycoplasma spp</i> <i>Rhodococcus equi</i> (poulains) <i>Pneumocystis jiroveci</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>Poumons</b>	Pleuropneumonie	<i>Streptococcus equi zooepidemicus</i> <i>Actinobacillus suis like sp</i> <i>Pasteurella spp</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Bacteroides fragilis, Bacteroides spp</i> <i>Fusobacterium spp</i>
	Abcès abdominale	<i>Streptococcus equi zooepidemicus</i> <i>Streptococcus equi equi</i> <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> <i>Rhodococcus equi</i> (poulains)
<b>Abdominale</b>	Abcès abdominale	<i>Streptococcus equi sp</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacter spp</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Clostridium perfringens</i>
<b>Tissus mous</b>	Plaies superficielles infectées	

		<i>Actinobacillus spp</i> <i>Klebsiella spp</i> <i>Pasteurella spp</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Proteus spp</i>
<b>Articulations</b>	Arthrite septique	<i>Staphylococcus spp</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacter spp</i> <i>Actinobacillus spp</i> <i>Klebsiella spp</i> <i>Pasteurella spp</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Proteus spp</i>
		<i>Actinobacillus spp</i> <i>Enterobacter spp</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella spp</i> <i>Pasteurella spp</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Proteus spp</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus equi zooepidemicus</i>
		<i>Streptococcus equi zooepidemicus</i>
		<i>Streptococcus equi zooepidemicus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella spp</i>
		<i>Streptococcus equi zooepidemicus.</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Actinobacillus spp</i>
		<i>Enterobacter spp</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella spp</i> <i>Pasteurella spp</i>
<b>Appareil urinaire</b>	Cystite et pyélonéphrite	<i>Actinobacillus spp</i> <i>Enterobacter spp</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella spp</i> <i>Pasteurella spp</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Proteus spp</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus equi zooepidemicus</i>
	Rétention placentaire	<i>Streptococcus equi zooepidemicus</i>
<b>Appareil reproducteur</b>	Placentite	<i>Streptococcus equi zooepidemicus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella spp</i>
		<i>Streptococcus equi zooepidemicus.</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Actinobacillus spp</i>
	Mammites	<i>Enterobacter spp</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella spp</i> <i>Pasteurella spp</i>

		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
		<i>Proteus spp</i>
	Orchite et épидидymite	<i>Streptococcus equi zooepidemicus.</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>
<b>Système nerveux</b>	Meningites bactériennes ou abcès spinal	<i>Staphylococcus aureus</i> ( <i>Klebsiella spp, Actinomyces spp</i> )

### 3.6 Effets indésirables et contre-indications

Les sulfamides ou leurs métabolites peuvent précipiter dans les urines et générer une cristallurie, une hématurie et une obstruction des tubules rénaux. Le risque est d'autant plus grand que le pH urinaire est bas et/ou que la concentration dans les urines est élevée (Plumb 2011). Les sulfamides rapidement excrétés sont donc plus susceptibles de générer ces effets indésirables mais cela dépend aussi de la solubilité individuelle du sulfamide et de ses métabolites (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994). Cependant ces signes rénaux et urinaires restent rares (A. Mercer 2022).

Dans certains cas, le traitement génère des réactions d'hypersensibilité qui peuvent se traduire par du prurit ou de l'urticaire, un angioœdème, une anaphylaxie, une fièvre médicamenteuse, une polyarthrite, une anémie hémolytique ou une leucopénie (A. Mercer 2022).

Un choc toxique peut intervenir en cas d'injection par voie intraveineuse trop rapide ou en dose excessive de l'antibiotique. Cela peut se traduire par une phlébite, une faiblesse musculaire, de l'ataxie, de la cécité ou une syncope (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994). Il existe plusieurs cas de morts chez le cheval suite à une injection par voie intraveineuse, dus le plus probablement à une stimulation vagale, avec bradycardie et vasodilatation, causée par les excipients et solvants de la formulation utilisée. Il est conseillé d'avoir une utilisation restreinte de la voie veineuse ou d'injecter la solution sur une durée minimale de 1 minute pour assurer une bonne dilution du médicament par le sang (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994).

Un traitement prolongé à base de triméthoprime et sulfamides peut générer des troubles hématologiques avec notamment une aplasie médullaire (anémie, leucopénie, thrombopénie),

hépatite, névrite périphérique, dégénérescence de la gaine de myéline, photosensibilisation et stomatite sont d'autres effets indésirables qui peuvent apparaître suite à un traitement prolongé. Le triméthoprime seul génère peu d'effets secondaires : administré jusqu'à 10 fois la dose recommandée, il ne présente pas d'effets indésirables. En revanche un traitement prolongé à des doses élevées peut engendrer des désordres au niveau de l'hématopoïèse dû à un défaut de synthèse de tétrahydrofolate (A. Mercer 2022).

Il est recommandé, dans le cas d'une thérapie prolongée avec l'association triméthoprime/sulfamides de réaliser une complémentation en folate et une surveillance régulière par numération formule sanguine (Plumb 2011).

L'antibiothérapie par voie orale peut générer des diarrhées chez certains chevaux par perturbation de la flore commensale digestive, cependant l'incidence reste relativement faible (Plumb 2011).

L'administration concomitante de détomidine et de triméthoprime-sulfamide peut causer une arythmie et une hypotension qui peuvent être fatales. Leur combinaison est donc contre-indiquée. La procaine, que l'on trouve souvent dans les solutions injectables de pénicilline G, est un analogue de structure de l'acide para-aminobenzoïque et peut par conséquent diminuer l'efficacité des sulfamides (A. Mercer 2022).

L'association triméthoprime-sulfamides doit être évitée chez des chevaux présentant des lésions hépatiques, des troubles de la coagulation, une maladie rénale ou des urolithiases (Van Duijkeren, Vulto, Van Miert 1994).

### **3.7 Propriétés anti-inflammatoires et immunomodulatrices**

Certaines études suggèrent que l'association du triméthoprime avec un sulfamide possède une action anti-inflammatoire et immuno-modulatrice non spécifique. En effet le Cotrimoxazole ND, dont les principes actifs sont le triméthoprime et le sulfaméthoxazole, a permis une amélioration clinique de patients humains atteints de polyarthrite rhumatoïde, avec un rôle anti-inflammatoire et immunomodulateur attribuable au sulfaméthoxazole (Astbury, Hill, Bird 1988). L'équipe de recherche Antiretroviral Research for Watoto (ARROW) a aussi montré une diminution de certains marqueurs plasmatiques de l'inflammation, la protéine C réactive (CRP) et l'interleukine 6, chez des enfants atteints du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) lors de prophylaxie prolongée au Cotrimoxazole ND (triméthoprime, sulfaméthoxazole) (Bwakura-Dangarembizi et al. 2014). Le Cotrimoxazole ND entraînerait

aussi une suppression du TNF alpha (Facteur de Nécrose Tumorale), cytokine impliquée dans les inflammations en phase aiguë et chronique (Choudhari, Spalgis, Ojha 2020). Les propriétés anti-inflammatoires de cet antibiotique ont aussi été utilisées sur des patients présentant des formes critiques de la COVID-19 car il limite l'orage cytokinique responsable des syndromes de détresses respiratoires aiguës (Choudhari, Spalgis, Ojha 2020).

D'autres sulfamides que le sulfaméthoxazole possèdent des propriétés anti-inflammatoires. La sulfadiazine inhibe les kinases permettant l'activation du facteur de transcription NF- $\kappa$ B (Feria-Garzón et al. 2019), ce dernier contrôlant l'expression de nombreux gènes impliqués dans la régulation du système immunitaire. La sulfasalazine a un effet immunomodulateur sur l'inflammasome et l'activation du TLR (Récepteur de type Toll) chez les patients positifs au VIH (Feria-Garzón et al. 2019).

L'association triméthoprim/sulfamides semble donc montrer des propriétés anti-inflammatoires et immunomodulatrices, cependant les mécanismes impliqués restent flous notamment pour le triméthoprim.

# **DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE DES CINETIQUES D'ELIMINATIONS PLASMATIQUE ET URINAIRE DU TRIMETHOPRIME, DE LA SULFADOXINE ET LEURS METABOLITES**

La collaboration de plusieurs équipes a permis la réalisation de cette étude expérimentale : l'unité de recherche INTHERES à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT) représentée par PL. Toutain, A. Ferran et D. Broussou ; l'Institut de Biochimie de l'Université Allemande du Sport de Cologne représenté par I. Schenk, S. Guddat, M. Machnik, H. Röttgen et M. Thevis ; et la Fédération Équestre Allemande représentée par M. Düe et H. Lagershausen.

L'objectif de ces expérimentations était de caractériser l'élimination du triméthoprimé et de la sulfadoxine après une injection unique par voie intraveineuse chez le cheval.

L'étude a été approuvée par le comité d'éthique CEEA-86 et a été entreprise conformément à la directive 2010/63/UE s'attachant à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques (numéro d'enregistrement 10250\_2017061615123788, Toulouse, France).

## **1 Matériel**

### **1.1 Molécules Testées**

Les molécules testées sont le triméthoprimé et la sulfadoxine. Elles ont été utilisées sous la forme de Borgal ND 24% contenant 200mg/mL de sulfadoxine et 40mg/mL de triméthoprimé (Virbac, Carros).

## 1.2 Produits chimiques

L'acétate d'ammonium, le dihydrogénophosphate de sodium monohydraté et l'acétate de sodium étaient de qualité pro analytique et obtenus auprès de Merck (Darmstadt, Allemagne). L'acétonitrile (qualité analytique), le méthanol, l'acide acétique (*pro analysis*) et l'hydrogénophosphate disodique ont été reçus de VWR Prolabo (Darmstadt, Allemagne). L'arylsulfatase/ $\beta$ -glucuronidase de *Helix pomatia* et la  $\beta$ -glucuronidase de *Escherichia coli* ont été achetées chez Roche (Mannheim, Allemagne). Les tampons et les solutions ont été fabriqués avec de l'eau distillée fabriquée par le Barnstead GenPure xCAD Plus de Thermo Scientific (Schwerte, Allemagne). Les cartouches Chromabond® HLB SPE (60 mg, 3 ml) ont été achetées chez Macherey & Nagel (Düren, Allemagne). Le NaCl isotonique à 0,9 % a été obtenu auprès de Serumwerk Bernburg AG (Bernburg, Allemagne). La protéase du pancréas bovin, le TMP (triméthoprime) et le d9-TMP ont été obtenus auprès de Sigma-Aldrich (Steinheim, Allemagne). SDO (sulfadoxine) et d3-SDO ont été achetés chez Ehrenstorfer (Augsburg, Allemagne), 3-desméthyltriméthoprime (3DMT), 4-desméthyltriméthoprime (4DMT) et  $\alpha$ -hydroxytriméthoprime (OHT) ont été fournis par TRC (Toronto, Canada), 3-oxyde-triméthoprime (TP3O) par Haoyuan Chem Express (Shanghai, Chine), le 1-oxyde-triméthoprime (TP1O) par Pharmaffiliates (Haryana, Inde) et Ac-SDO par Combi-Blocks (San Diego, États-Unis). Les solutions mères et de travail ont été préparées dans du méthanol.

## 1.3 Animaux de l'étude expérimentale

### ○ Caractéristiques

L'étude a été menée sur 8 chevaux de sport et de loisir du centre équestre de l'ENVT, âgés de 10 à 16 ans, de poids compris entre 398kg et 560kg et de races variées (Pure Race Espagnole, Pur-sang, Arabe, Anglo-arabe, Trotteur Français). Ils avaient une activité physique modérée : 1 à 2h de travail monté par jour, en plus de l'activité physiologique en liberté au pré. Afin de faciliter les prélèvements d'urine, les chevaux choisis étaient exclusivement des hongres.

○ **Environnement et mode de vie**

• **Habitat**

Les huit chevaux de l'étude vivaient au pré avec d'autres congénères toute l'année. Lors des manipulations, les chevaux étaient placés, le temps nécessaire aux prélèvements, dans des box individuels paillés et nettoyés (paille souillée par l'urine ou les crottins retirés quotidiennement une fois le cheval sorti du box). Ils sont donc restés en box de 7h à 19h30 le premier jour puis de 7h à la première miction spontanée pour les 19 jours suivants de prélèvements.

• **Régime alimentaire**

Les huit chevaux de l'étude ont reçu une ration adaptée à leur travail et leur morphologie à base d'un aliment complet sous forme de granulés (Purina legend, Pomerac, France) distribué au box à 7h00 les matins de prélèvements. Ils disposaient également de foin à volonté dans leur pré. L'eau potable provenait d'un réseau domestique sans contaminant répertorié. Les chevaux en disposaient à volonté que ce soit au box ou au pré (abreuvoirs automatiques ou bac d'eau)

• **Médication**

Les huit chevaux ont été déclarés sains avant le début de l'étude sur la base d'un examen clinique complet, et n'ont reçu aucune médication supplémentaire pendant toute la période expérimentale et au moins 3 mois avant.

Le tableau 4 ci-dessous récapitule les caractéristiques individuelles des chevaux de l'étude.

*Tableau 4: Caractéristiques individuelles des 8 chevaux de l'étude*

<b>Cheval</b>	<b>Sexe</b>	<b>Race</b>	<b>Age (année)</b>	<b>Poids (kg)</b>	<b>Habitat</b>
Nobel	Hongre	Pure Race Espagnole	14	510	Pré
Rêve	Hongre	Trotteur Français	14	556	Pré
Quashmir	Hongre	Arabe	15	398	Pré
Pitou	Hongre	Anglo-Arabe	14	514	Pré
Diedo	Hongre	Pur-sang	12	522	Pré
Phénix	Hongre	Trotteur Français	16	492	Pré
Kepresh	Hongre	Pur-sang	11	560	Pré
Leridano	Hongre	Pure Race Espagnole	10	480	Pré

## 2 Méthode

### 2.1 Plan expérimental

Le plan expérimental consistait en une administration intraveineuse unique de triméthoprimine et sulfadoxine dans un ratio de dose 1/5, suivie de prélèvements pour déterminer les concentrations plasmatiques et urinaires de la sulfadoxine, du triméthoprimine et de son métabolite au cours du temps.

Le nombre de prélèvements a été déterminé par l'*Institute of Biochemistry Center for Preventive Doping Research, (German Sport University Cologne, Am Sportpark Müngersdorf, 50933 Cologne, Germany)* (IBC) et a été réajusté grâce à l'étude pilote effectuée sur deux chevaux.

Les 8 chevaux de l'étude ont reçu une injection unique de 15mg/kg de triméthoprimine-sulfadoxine (2,7mg/kg triméthoprimine, 13,4mg/kg de sulfadoxine) par voie intraveineuse dans la veine jugulaire droite à l'aide d'un cathéter. Le volume de Borgal® 24% correspondant à la dose par cheval est retranscrit dans le tableau 5 ci-dessous. Afin de minimiser les effets indésirables, le bolus IV a été administré lentement sur une période de 2 à 3 minutes. Les 2 chevaux de l'étude pilote ont reçu l'injection le 15/04/2019 et 6 chevaux de l'étude principale l'ont reçu le 15/04/2019.

Tableau 5: Volume de Borgal® administré et doses de triméthoprimine et sulfadoxine correspondantes

Cheval	Poids (kg)	Volume calculé (mL)	Volume injecté (mL)	Dose SDX injectée (mg)	Dose TMP injectée (mg)
Nobel	510	34,17	34	6798,30	1361,70
Rêve	556	37,25	37	7400,36	1478,96
Quashmir	398	26,67	27	5400,86	1078,58
Pitou	514	34,44	34	6800,22	1362,10
Diedo	522	34,97	35	7000,02	1398,96
Phénix	492	32,96	33	6597,72	1318,56
Kepresh	560	37,52	37,5	7498,40	1500,80
Leridano	480	32,16	32	6398,40	1281,60

## 2.2 Prélèvements

### ○ Prélèvements sanguins

#### ● **Collecte des prélèvements sanguins**

Les échantillons de sang ont été prélevés à 0, 0,08, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 72, 96, 120, 168, 216, 264, 312 et 360 heures après l'injection, par prise de sang au niveau de la veine jugulaire gauche au Vacutainer® dans des tubes héparinés de 10mL. Les heures des prélèvements étaient contrôlées par des chronomètres homologués, déclenchés au début de l'injection pour chaque cheval.

#### ● **Identification et stockage des prélèvements**

Les tubes étaient immédiatement identifiés avec le nom du cheval et l'heure de la prise de sang. Ils étaient conservés au frais (4°C) et à l'abri de la lumière jusqu'à leur centrifugation dans les deux heures suivant le prélèvement de sang. Le plasma était extrait et placé dans trois tubes Eppendorf étiquetés avec mention du nom de l'étude, le nom du cheval, la nature du liquide contenu (plasma), l'heure de collecte, le numéro d'aliquotage et la température de conservation. Les tubes étaient conservés à -20°C sur site jusqu'à leur transfert vers les laboratoires de l'IBC pour l'analyse. Un des tubes était systématiquement conservé au congélateur à -20°C sur le site dans un autre bâtiment pour archivage sur cinq ans.

### ○ Prélèvements d'urine

#### ● **Collecte des prélèvements d'urine**

Les urines étaient obtenues par miction spontanée et recueillies dans des sacs plastiques à usage unique placés dans des collecteurs urinaires mis en place chaque matin entre 7h30 et 8h00. La valeur du volume d'urine recueilli était relevée pour chacun des prélèvements et l'urine était répartie en 3 fractions aliquotées de 40mL. Les prélèvements d'urine ont été obtenus aux environs des horaires prévus : à 0, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 168, 216, 288, 360, 432, 504, 600, 696, 792, 888, 984, 1080 et 1200 heures après l'injection pour les chevaux de l'étude pilote et à 0, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 168, 216, 264, 312, 360, 456, 552, 648, 768, 888, 1008, 1176, 1344, 1515 et 1680 heures après l'injection pour les chevaux de l'étude principale (les horaires exacts de récolte des urines ont été enregistrés et sont présents en annexes).

#### ● **Identification et stockage des prélèvements**

Les trois aliquotes étaient étiquetés avec le nom de l'étude, le nom du cheval, la nature du liquide contenu (urine), l'heure de collecte, le numéro d'aliquotage et la température de conservation. Ils étaient ensuite conservés à l'abri de la lumière à 4°C dans les deux heures

suivant la collecte puis étaient déplacés vers un congélateur à -20°C jusqu'à leur transfert pour les analyses menées à l'IBC. De même que pour le plasma, un des trois aliquots était conservé à -20°C sur le site dans un autre bâtiment pour archivage sur cinq ans.

### **2.3 Analyse des prélèvements**

Les aliquots de 0,5 ml de plasma ont été enrichis avec 20 et 2 ng/ml des standards internes d9-TMP et d3-SDO, respectivement. Les échantillons avec des concentrations attendues supérieures à 100 ng/mL ont été dilués avec de l'eau distillée en conséquence. Par la suite, la protéolyse a été réalisée par addition de 10 µl de solution de protéase (5 mg/mL) et incubation des échantillons pendant 1 h à 50°C.

Les aliquots de 1 ml d'urine ont été enrichis avec 50 ng/mL de d9-TMP et 10 ng/mL de d3-SDO, respectivement. Par la suite, les échantillons ont été ajustés à pH 5,2 avec 0,1 ml de tampon acétate de sodium 4 M et les conjugués potentiels ont été hydrolysés avec la β-glucuronidase/arylsulfatase de *Helix pomatia* à 50 °C pendant 1 h. Dans le cadre du développement de la méthode, six échantillons d'urine de différents chevaux et les points temporels post-administration ont été analysés sans et après hydrolyse avec la β-glucuronidase/arylsulfatase (pH 5,2), la β-glucuronidase de *E. coli* (pH 7,0) et l'arylsulfatase de *Pseudomonas aeruginosa* (pH 7,5) afin d'obtenir des informations sur le métabolisme de phase II des analytes.

Ensuite, une extraction en phase solide (SPE) des échantillons d'urine et de plasma a été réalisée au moyen de cartouches Oasis® HLB SPE (60 mg, 3 mL) qui ont été conditionnées avec 1 mL de méthanol et 1 mL d'eau distillée. Après application des échantillons, une étape de lavage a suivi avec 1 mL d'un mélange eau/méthanol (90 : 10, v/v). Les cartouches ont été éluées avec 1 ml de méthanol, selon les recommandations du fabricant. L'éluât méthanolique était évaporé à sec au moyen d'un évaporateur rotatif sous vide. Le résidu sec a été reconstitué dans 100 µl d'un mélange acétate d'ammonium (contenant 1 % d'acide acétique)/acétonitrile (60:40, v/v) pour analyse. Trois microlitres de la solution ont été injectés dans le système LC-MS/MS. Des courbes d'étalonnage fraîches et des échantillons témoins négatifs ont été analysés avec chaque lot d'échantillons.

## 2.4 Analyse LC-MS/MS

Les analyses LC-MS/MS ont été réalisées sur un chromatographe liquide Agilent Series 1260 (Waldbronn, Allemagne) couplé à un spectromètre de masse triple quadripôle 5500 QTrap (AB Sciex, Darmstadt, Allemagne) équipé d'une interface d'ionisation par électrospray (ESI). La colonne était une colonne Gemini C6-Phenyl 110 Å avec des dimensions de 4,6 x 150 mm et une taille de particules de 3 µm de Phenomenex (Aschaffenburg, Allemagne). L'élution en gradient a été réalisée avec un tampon d'acétate d'ammonium (acétate d'ammonium 5 mM, acide acétique à 0,1 % dans de l'eau ultrapure, pH 5) comme solvant A et de l'acétonitrile comme solvant B. Le débit du gradient a été ajusté à 500 µl/min, en commençant par 100 % de solvant A pendant 1 min. De 1 à 7 min, la phase aqueuse a été réduite à 0 % et maintenue constante pendant 2 min. Par la suite, un rééquilibrage à 100% de solvant A a été effectué pendant 4,5 min afin de revenir aux conditions initiales.

À des fins de quantification, les transitions ioniques à m/z 311-156, m/z 291-261, m/z 277-261, m/z 307-243 et m/z 307-275 ont été surveillées pour SDO, TMP, 3DMT, OHT et TP3O, respectivement. La quantification a été effectuée au moyen des étalons internes d3-SDO (m/z 324-156) et d9-TMP (m/z 300-264). Une courbe d'étalonnage a été analysée avec chaque lot d'échantillons. Les rapports relatifs de surface de pic et les concentrations ont été calculés par le logiciel Analyst (version 1.6). De plus, une analyse semi-quantitative a été effectuée pour Ac-SDO (m/z 353-198) et le triméthoprime-1-oxyde (TP1O, m/z 307-275).

## 2.5 Validation de la méthode

La méthode a été entièrement validée pour l'analyse quantitative de SDO, TMP, 3DMT, OHT et TP3O dans le plasma et l'urine de cheval en tenant compte des paramètres spécificité, rendement, linéarité, précision, exactitude, limites inférieures de quantification (LOQ) et de détection (LOD), stabilité, et les effets de suppression/renforcement des ions.

Le rendement a été calculé à partir du rapport de l'ensemble A et B, dans lequel A est la moyenne de six échantillons surchargés avec chaque analyte à une concentration de 1 ng/mL au début et B la moyenne de six blancs surchargés à la fin de l'échantillon préparation. L'étalon interne a été ajouté aux deux ensembles d'échantillons à la fin de la préparation des échantillons.

La linéarité de la réponse du signal dans le plasma a été testée sur une plage de 0,05 à 100 ng/ml pour SDO et de 0,1 à 100 ng/ml pour TMP, 3DMT, OHT et TP3O, respectivement,

en fortifiant la matrice de plasma vierge avec la quantité équivalente de matériel de référence. Des courbes d'étalonnage dans l'urine ont été construites couvrant des plages de concentration allant de 0,3 à 300 ng/mL pour le SDO, de 0,5 à 300 pour le TMP et le 3DMT et de 0,5 à 100 ng/mL pour l'OHT et le TP3O, compte tenu de leurs concentrations attendues dans les échantillons après l'injection.

La LLOD a été estimée comme la concentration la plus faible pouvant être détectée à un rapport signal sur bruit  $\geq 3$  pour l'ion quantificateur. La LOQ a été postulée comme la concentration la plus faible détectable avec un rapport signal sur bruit  $\geq 9$  et vérifiée par une détermination sextuple du niveau estimé afin d'obtenir la précision respective. Le critère d'acceptation de la LOQ était un coefficient de variation (CV) inférieur à 20%.

Les précisions de SDO, TMP, 3DMT, OHT et TP3O ont été déterminées à l'aide de 18 échantillons de contrôle qualité (QC) qui ont été préparées à des concentrations faibles, moyennes et élevées quantifiées sur un jour (6 échantillons utilisées) et puis sur trois jours différents (6 échantillons de la quantification sur un jour et 6 échantillons par jour pour les deux autres jours).

Afin d'inclure l'étape de dilution dans la validation, des niveaux de concentration élevés ont été dilués au 1/100ème avec du NaCl isotonique (0,9 %) avant la préparation de l'échantillon.

Pour la détermination de la précision, les échantillons QC, chacun préparé à des concentrations faibles, moyennes et élevées, ont été quantifiés au moyen d'une courbe d'étalonnage. Les moyennes des valeurs calculées ont été comparées aux valeurs théoriques.

La stabilité a été vérifiée au moyen de 12 échantillons de plasma et d'urine, chacun enrichi avec 20ng/mL de SDO, TMP, 3DMT, OHT et TP3O pour les échantillons de plasma et 10 ng/mL de SDO, TMP, 3DMT, OHT et TP3O pour les échantillons d'urine. Les échantillons ont été stockés à -20°C degrés et quantifiés après 28 (pour 6 échantillons de plasma et d'urine) et 56 (pour 6 échantillons de plasma et d'urine) jours, respectivement, en utilisant des calibrateurs fraîchement préparés. Pour l'évaluation des effets de suppression ou d'amélioration des ions, les intensités d'analyte ont été comparées dans des solutions avec et sans matrice d'urine ou de plasma.

## 2.6 Analyses des données pharmacocinétiques

Le logiciel PKanalix® a été utilisé pour l'analyse pharmacocinétique non compartimentale des données issues des chevaux de l'étude.

### 2.6.1 Détermination de la clairance rénale du triméthoprime et de la sulfadoxine

Lors des prélèvements d'urine, le volume produit pour chaque cheval a été relevé. Ainsi, connaissant le volume et la concentration de l'urine à chaque prélèvement nous pouvons en déduire la quantité (en ng) de triméthoprime et de sulfadoxine émise sur l'ensemble des prélèvements avec l'équation suivante.

$$\sum_{i=1}^n C_i \times V_i = A_e \quad (\text{équation 1})$$

Où n est le nombre de prélèvement,  $C_i$  la concentration urinaire de la molécule concernée en ng/mL au prélèvement i,  $V_i$  le volume d'urine émise en mL au prélèvement i et  $A_e$  (Amount excreted) la quantité de molécule émise au totale dans les urine suite à une injection intraveineuse unique.

La clairance rénale (Clr) se calcule alors via l'équation 2 et avec le paramètre AUC (*Area Under the Curve*) qui est calculé par le logiciel PKanalix®.

$$Clr = \frac{A_e}{AUC} \quad (\text{équation 2})$$

### 2.6.2 Détermination du temps de détection

Le temps de détection dans le plasma (ou dans les urines) est défini par l'EHSCL (European Horserace Scientific Liaison Committee) comme l'intervalle de temps entre la dernière administration de médicament et le moment où la concentration plasmatique (ou urinaire) du médicament devient inférieure à la HSL (Harmonized Screening Limit) pour tous les chevaux, avec la méthode analytique de routine et dans le cadre d'une expérience menée selon les recommandations de l'EHSCL (Toutain 2010).

Le temps de détection peut être estimé graphiquement, mais il peut aussi être déterminé par le calcul via la méthode Toutain-Lassourd. En effet, la pente d'élimination terminale ( $\lambda_z$ ) dans le plasma et une valeur de concentration des molécules étudiées à un temps donné en fin de

cinétique nous permettent de déterminer le temps de détection (équation 1). La figure 13 illustre les paramètres permettant le calcul du temps de détection.

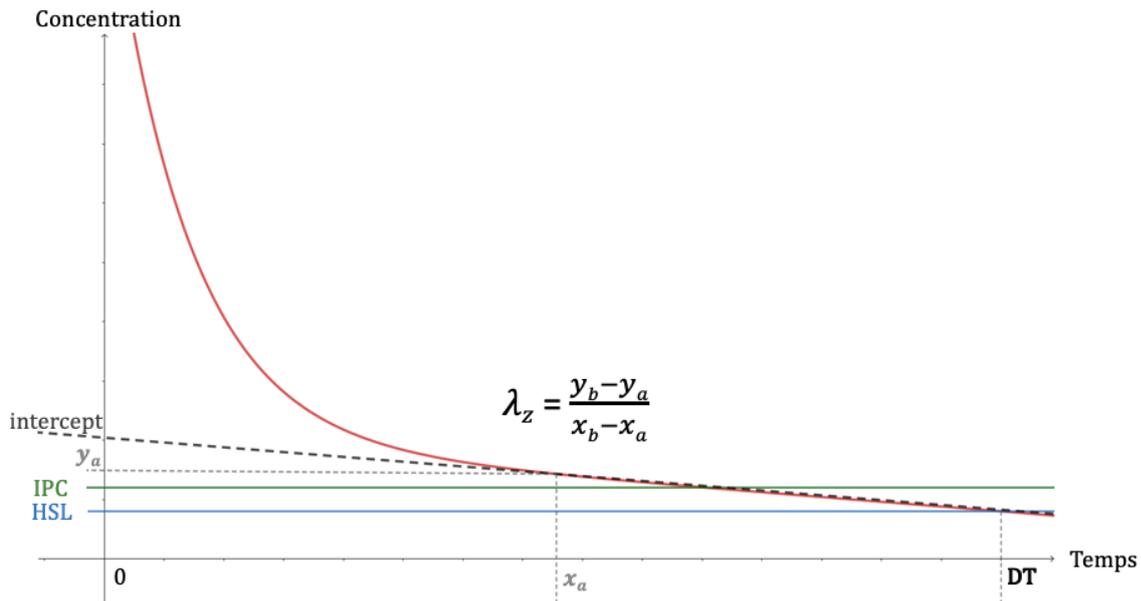


Figure 13: Illustration graphique des paramètres pharmacocinétiques impliqués dans la détermination du temps de détection (avec  $\lambda_z$  la pente terminale la concentration au cours du temps) d'après Toutain et Lassourd 2002

La pente terminale ( $\lambda_z$ ) de la courbe de concentration plasmatique du médicament peut être estimée par l'équation 3, où  $Y_a$  est le log de la concentration connue au temps  $X_a$ ,  $Y_b$  le log (HSL), HSL étant aussi appelé LOQ (Limit of Quantification) et  $X_b$  le temps de détection (DT).  $\lambda_z$  est exprimé en  $h^{-1}$  et est toujours positif.

$$-\lambda_z = \frac{Y_b - Y_a}{X_b - X_a} \quad (\text{équation 3})$$

Lorsque l'équation 1 est appliquée entre les temps 0h et un temps X de concentration Y connue, on obtient les équations 4.

$$-\lambda_z = \frac{\log(\text{intercept}) - \log(Y)}{-X} \Leftrightarrow Y = \text{Intercept} \cdot e^{-\lambda_z \times X} \quad (\text{équation 4})$$

En appliquant l'équation 3 entre les temps  $X_a=0$  et  $X = DT$ , avec  $Y_a=\log(\text{intercept})$  et  $Y = \log(\text{LOQ})$ , on obtient l'équation 5.

$$-\lambda z = \frac{\log(\textit{intercept}) - \log(LOQ)}{-DT} \Leftrightarrow DT = \frac{\log\left(\frac{LOQ}{\textit{intercept}}\right)}{-\lambda z} \quad (\text{équation 5})$$

### 2.6.3 Détermination du temps de retrait

Le temps de retrait (Withdrawal time, WT) est une recommandation vétérinaire qui fournit un jugement scientifique et doit prendre en compte les paramètres intrinsèques à l'animal. C'est donc un temps estimé pour lequel les concentrations sont inférieures à l'IPC (*Irrelevant Plasma Concentration*). Cependant, il ne garantit pas avec certitude de la négativité d'un cheval lors d'un contrôle.

De la même manière que pour le temps de détection, un temps de retrait peut être estimé graphiquement ou calculé selon la méthode Toutain et Lassourd.

Comme détaillé précédemment (paragraphe « La détermination des concentrations maximales autorisées et du temps de détection » dans la partie 2.5), l'IPC est obtenu par l'application d'un facteur de sécurité SF fixé à 500. Ainsi en combinant les équations 6 et 7, on peut déterminer la valeur de l'IPC. La dose standard est la dose recommandée, la clairance plasmatique est la clairance plasmatique de la molécule sur l'intervalle de dosage et F est la biodisponibilité et vaut 1 puisque l'administration de la molécule se fait par injection intraveineuse.

$$EPC = \frac{\text{Dose standard} \times F}{\text{Clairance plasmatique}} = \frac{AUC}{24h} \quad (\text{équation 6})$$

$$EPC = SF \times IPC \Leftrightarrow IPC = \frac{EPC}{SF} \quad (\text{équation 7})$$

La détermination graphique de WT peut ainsi être déterminée avec la valeur de l'IPC obtenue par les calculs.

D'autre part il est possible d'extrapoler WT à partir du temps de détection moyen de l'étude. P.L. Toutain (Toutain 2010) suggère dans un article publié en 2010 que, pour une étude menée sur 8 chevaux, on pouvait appliquer un facteur 1,4 au temps de détection moyen pour avoir une valeur de WT (Toutain 2010). Cependant dans notre étude nous avons utilisé l'équation 8 où HL est le temps de demi-vie terminal.

$$WT = 1,44 \times HL \times \log\left(\frac{\text{intercept}}{IPC}\right) \quad (\text{équation 8})$$

Puisque le temps de retrait dépend des concentrations sans effets et que la sulfadoxine et le triméthoprimé sont des antibiotiques, le temps de retrait a aussi été calculé suite à l'application du facteur de sécurité de 500 sur les CMI minimales pour le triméthoprimé et la sulfadoxine.

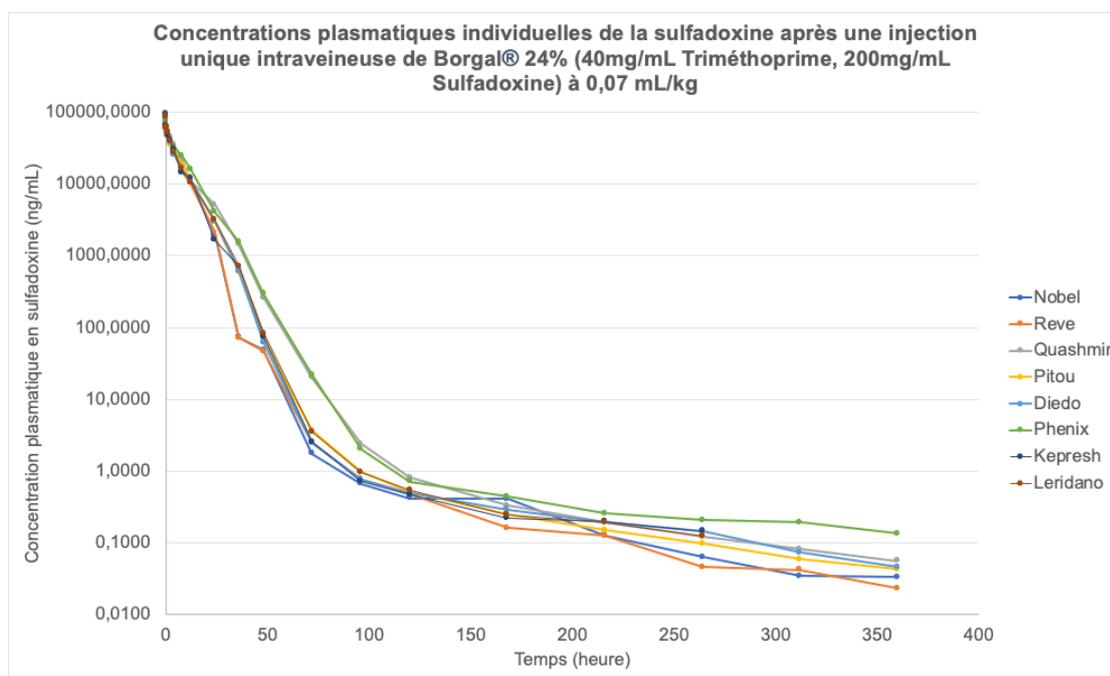
### 3 Résultats

#### 3.1 Concentration plasmatique de la sulfadoxine, du triméthoprime et de son principal métabolite le desméthyltriméthoprime

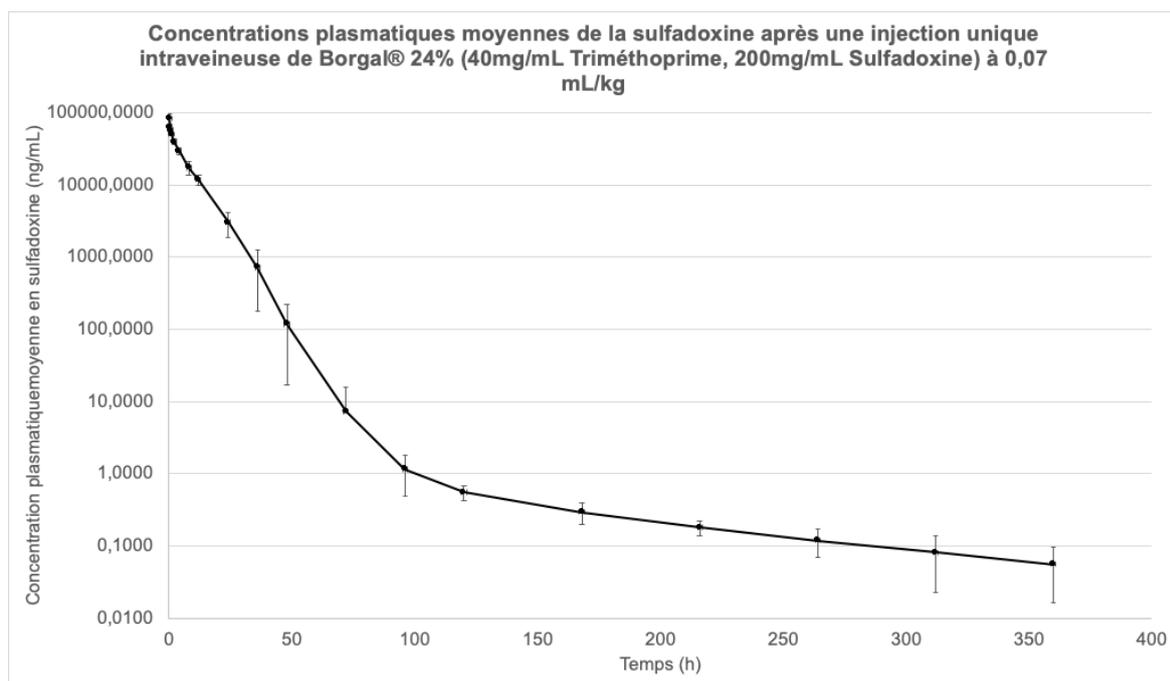
L'analyse pharmacocinétique non compartimentale des données ainsi que le calcul du temps de demi-vie et de la clairance plasmatique ont été réalisés avec le logiciel Pkanalix®.

##### Sulfadoxine

Le graphique 1 illustre l'évolution de la concentration plasmatique en sulfadoxine au cours du temps suite à l'injection pour chacun des individus de l'étude, tandis que le graphique 2 représente l'évolution de la concentration plasmatique moyenne en sulfadoxine suite à l'injection pour les chevaux de notre étude.



Graphique 1: Concentrations plasmatiques individuelles de la sulfadoxine au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg



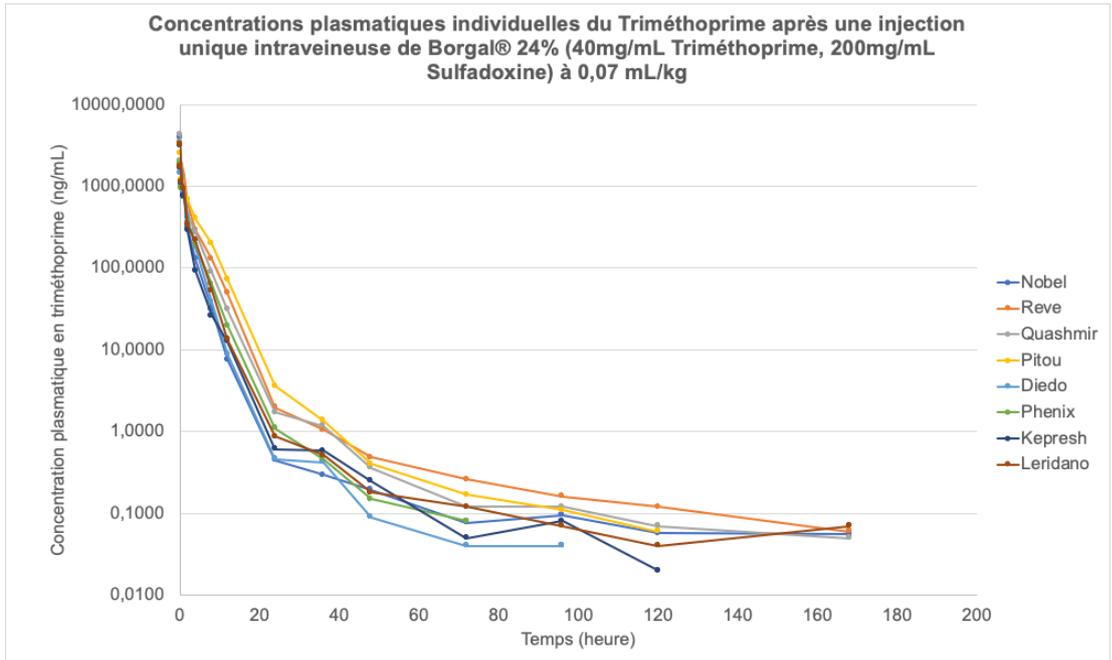
Graphique 2: Concentrations plasmatiques moyennes de la sulfadoxine au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprim, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg

Les concentrations plasmatiques de sulfadoxine maximales obtenues au premier prélèvement, soit 5 minutes après l'injection se situent entre 73400 ng/mL et 96500 ng/mL (84100 ng/mL en moyenne). La décroissance de la concentration plasmatique en sulfadoxine après une administration unique semble bi-exponentielle. Le temps de demi-vie moyen calculé est de 75,86 h et la clairance plasmatique moyenne est de 32,32 mL/kg/h.

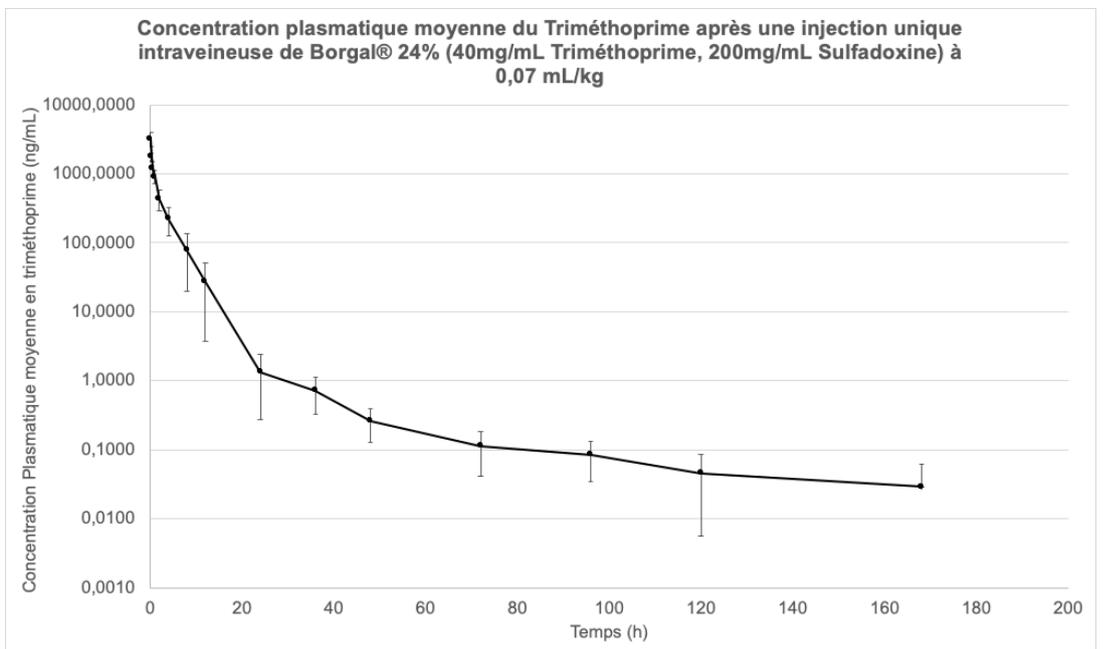
La sulfadoxine est détectable dans le plasma jusqu'au dernier prélèvement (soit 11 jours pour les 2 chevaux de l'étude pilote et 15 jours pour les 6 chevaux de l'étude principale) mais pour l'ensemble des chevaux de l'étude la concentration plasmatique en sulfadoxine est inférieure à 1ng/mL à partir de 120h après l'injection (soit 5 jours).

### **Triméthoprim**

Le graphique 3 illustre l'évolution de la concentration plasmatique en triméthoprim au cours du temps suite à l'injection pour chacun des individus de l'étude. Le graphique 4 quant à lui représente l'évolution de la concentration plasmatique moyenne en triméthoprim suite à l'injection pour les chevaux de notre étude.



Graphique 3: Concentrations plasmatiques individuelles du triméthoprimé au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprimé, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg

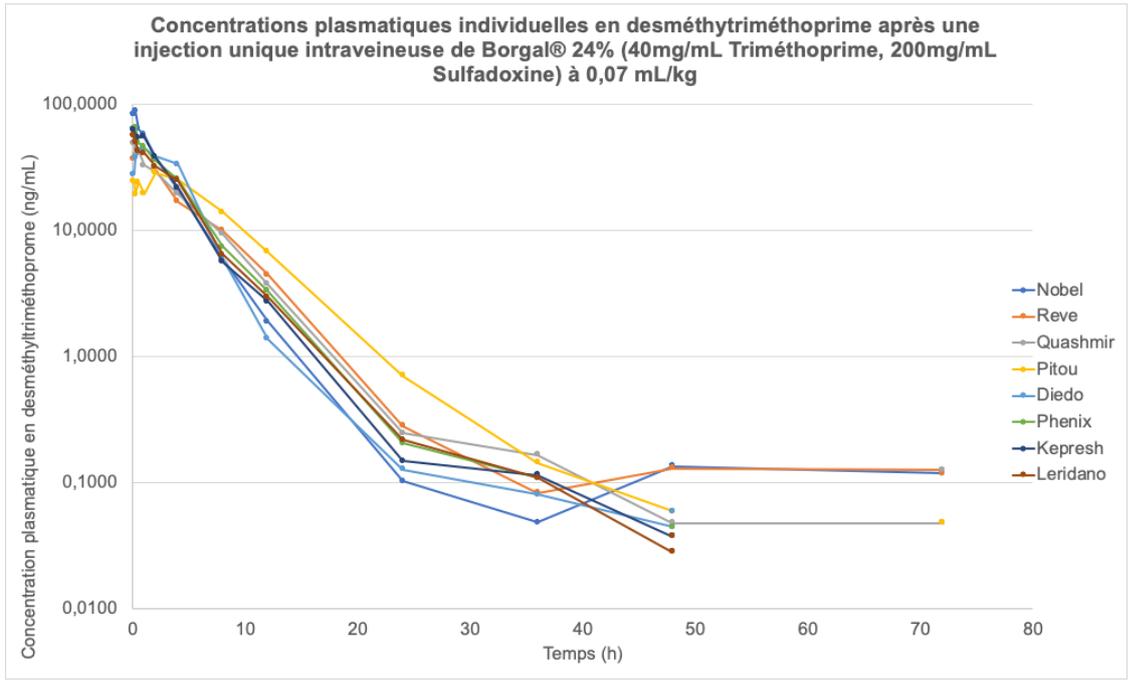


Graphique 4: Concentration plasmatique moyenne du triméthoprimé au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprimé, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg

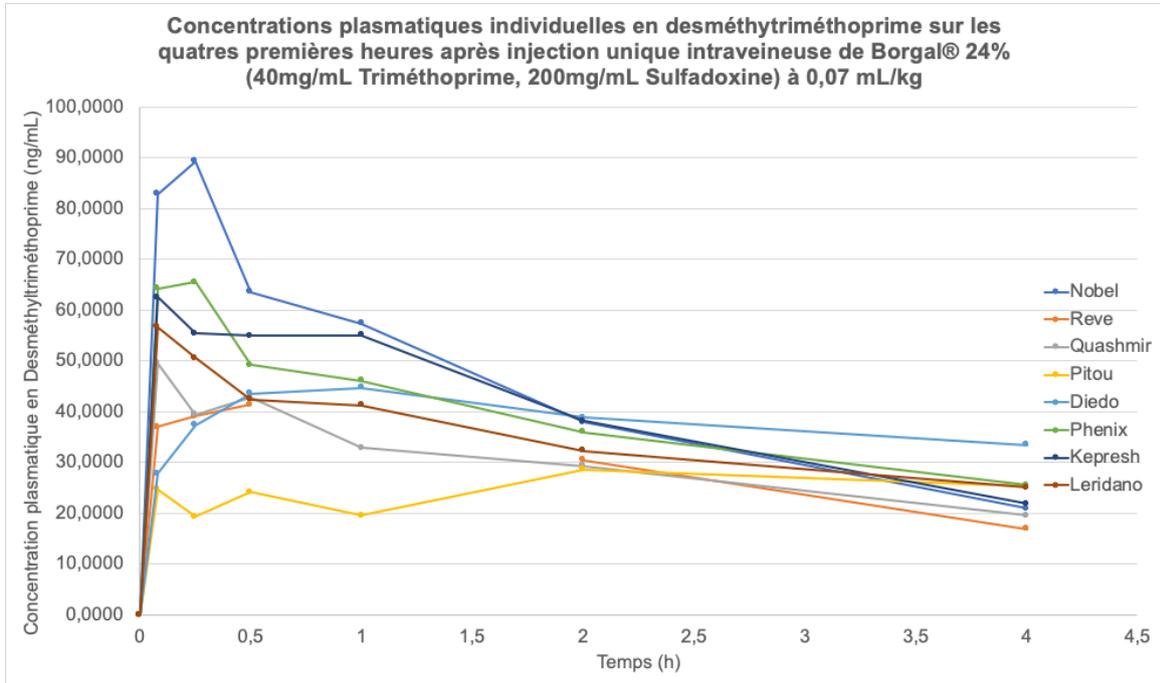
Les concentrations plasmatiques de triméthoprime maximales obtenues au premier prélèvement, soit 5 minutes après l'injection se situent entre 1830 ng/mL et 4300 ng/mL (3196ng/mL en moyenne). La décroissance de la concentration plasmatique en triméthoprime après une administration unique semble être bi-exponentielle. Le temps de demi-vie moyen calculé est de 47,19 h et la clairance plasmatique moyenne est de 801,67 mL/kg/h (entre 512,05 mL/kg/h et 1069,85 mL/kg/h).

Le triméthoprime est détectable dans le plasma entre 36 et 72h selon les chevaux (55,5h en moyenne). La concentration plasmatique en triméthoprime est inférieure à 1ng/mL pour l'ensemble des chevaux de l'étude 48h après l'injection.

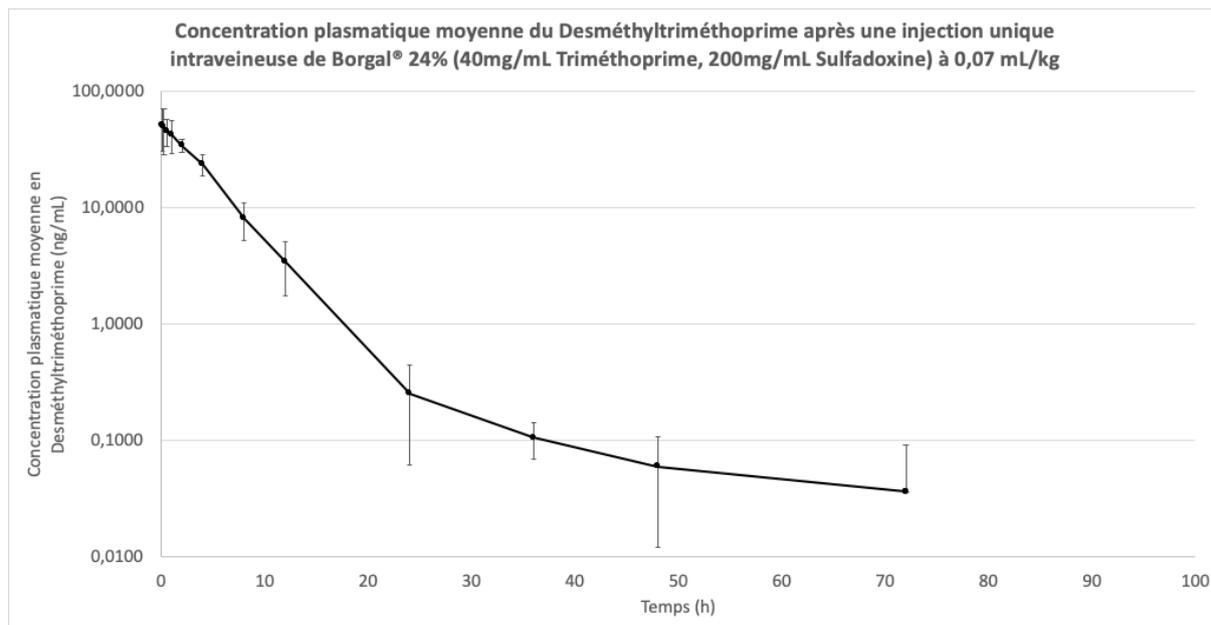
### **Desméthyltriméthoprime**



Graphique 5: Concentrations plasmatiques individuelles en desméthyltriméthoprime au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg



Graphique 6: Concentrations plasmatiques individuelles en desméthyltriméthoprime sur les quatre premières heures après injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg

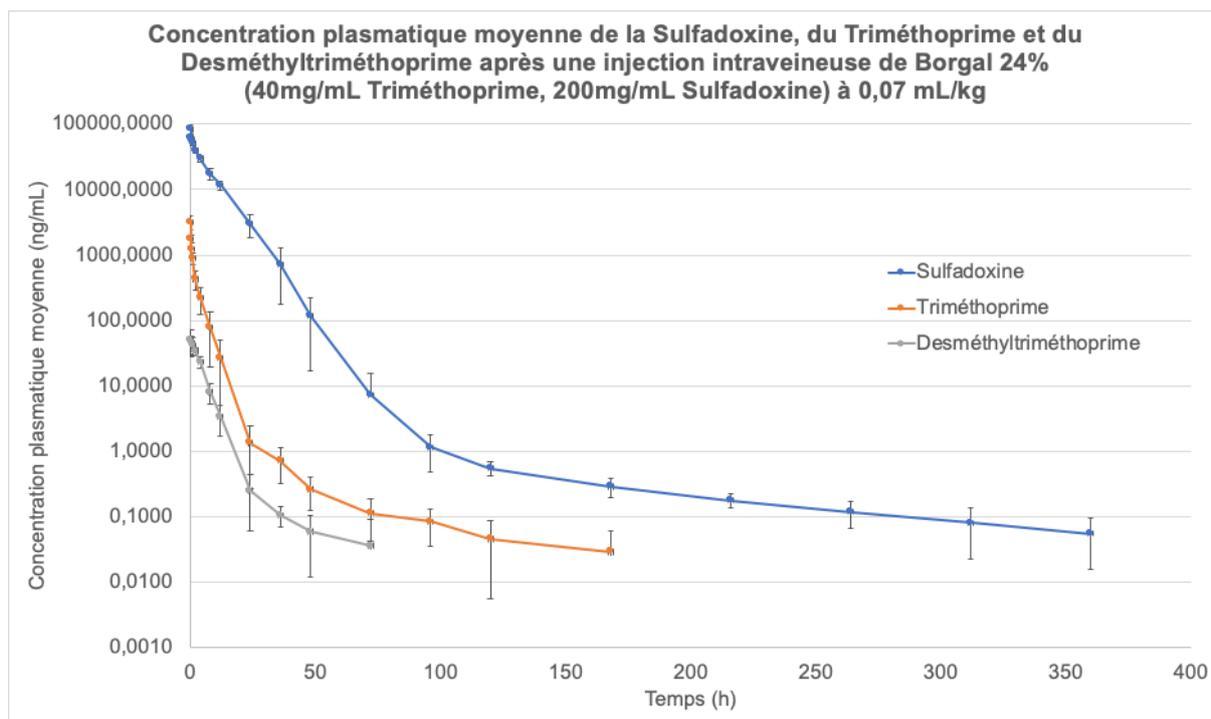


Graphique 7: Concentration plasmatique moyenne du desméthyltriméthoprime au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg

Le pic de concentration du desméthyltriméthoprime intervient entre le premier et le cinquième prélèvements, soit entre 5 min et 2 heures après l'injection. On observe trois tendances : on peut distinguer un premier groupe de quatre chevaux (Kepresh, Leridano, Quashmir et Phenix) qui atteignent rapidement le pic de concentration du desméthyltriméthoprime dans les 15 minutes après l'injection avec des concentrations plasmatiques entre 49,5 ng/mL et 65,5 ng/mL. Pour Nobel, le pic de concentration est lui aussi atteint rapidement, dès les 15 premières minutes après l'injection, cependant la concentration maximale atteinte est plus élevée que pour les autres chevaux de l'étude avec une valeur de 89,3 ng/mL. Enfin les trois derniers chevaux (Rêve, Pitou, Diedo) présentent des pics plus tardifs, entre 30 minutes et 2 heures après l'injection, avec des concentrations maximales plus faibles que les autres chevaux, avec des valeurs entre 28,6ng/mL et 44,7ng/mL.

La décroissance des concentrations plasmatiques du desméthyltriméthoprime après une administration unique de triméthoprime semble exponentielle. Le temps de demi-vie du desméthyltriméthoprime a été calculé pour chacun des 8 chevaux à partir de la pente terminale d'élimination déterminée via le logiciel Pkanalix® et est en moyenne de 10,7h.

Pour tous les chevaux de l'étude la concentration plasmatique en desméthyltriméthoprime est inférieure à 1ng/mL 24h après l'injection. La molécule reste détectable dans le sang entre 36h et 72h après l'injection selon les chevaux.



Graphique 8: Concentration plasmatique moyenne de la Sulfadoxine, du Triméthoprime et du Desméthyltriméthoprime au cours du temps après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg

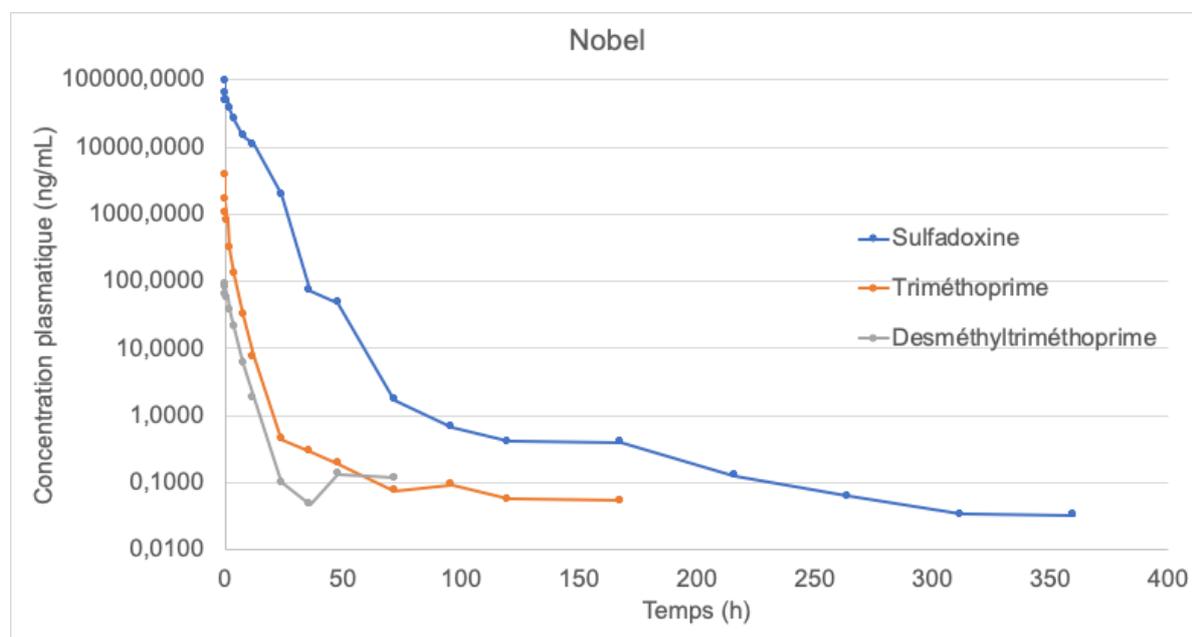
Le graphique 8 combine les concentrations moyennes de la sulfadoxine, du triméthoprime et du desméthyltriméthoprime pour chaque temps de prélèvement ainsi que leurs écarts-type. Les graphiques 9 à 16 illustrent l'évolution de la concentration plasmatique en sulfadoxine, triméthoprime et desméthyltriméthoprime au cours du temps pour chacun des chevaux suite à l'injection.

Le triméthoprime est éliminé plus rapidement que la sulfadoxine dans les premières 24h après l'injection. En effet on observe une baisse de 99,9% du triméthoprime contre 96% pour la sulfadoxine sur cette fenêtre de temps.

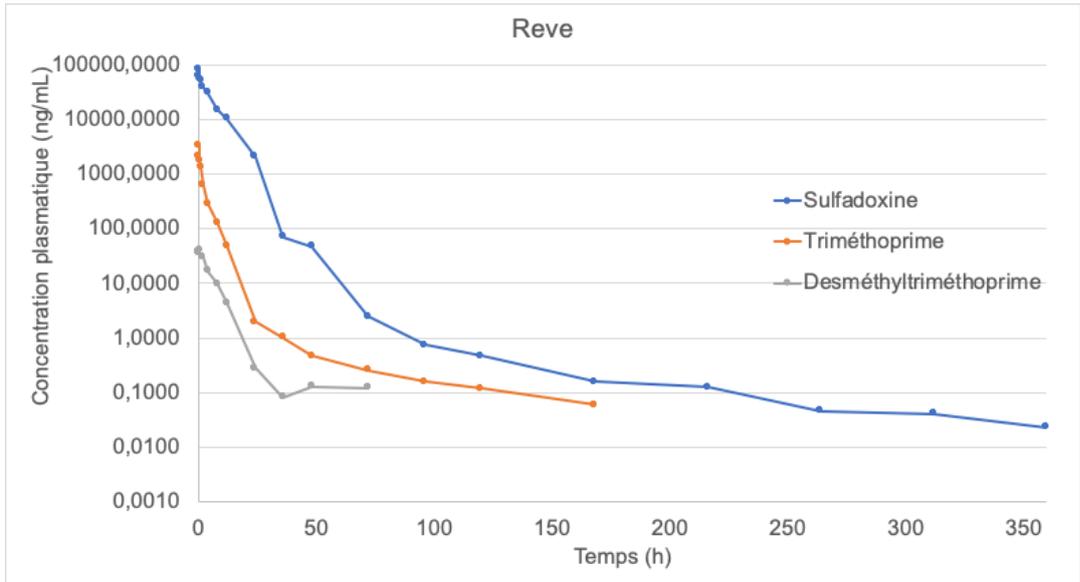
D'autre part, le pic de concentration du desméthyltriméthoprime est atteint dans les 2 heures après injection, ce qui suggère un métabolisme relativement rapide du triméthoprime en desméthyltriméthoprime. Le métabolite du triméthoprime n'est détectable que jusqu'à 72h (soit 3 jours) dans le sang contre 168h (7 jours) pour le triméthoprime.

Tableau 6: Récapitulatif des principaux paramètres pharmacocinétiques de la sulfadoxine, du triméthoprime et du desméthyltriméthoprime

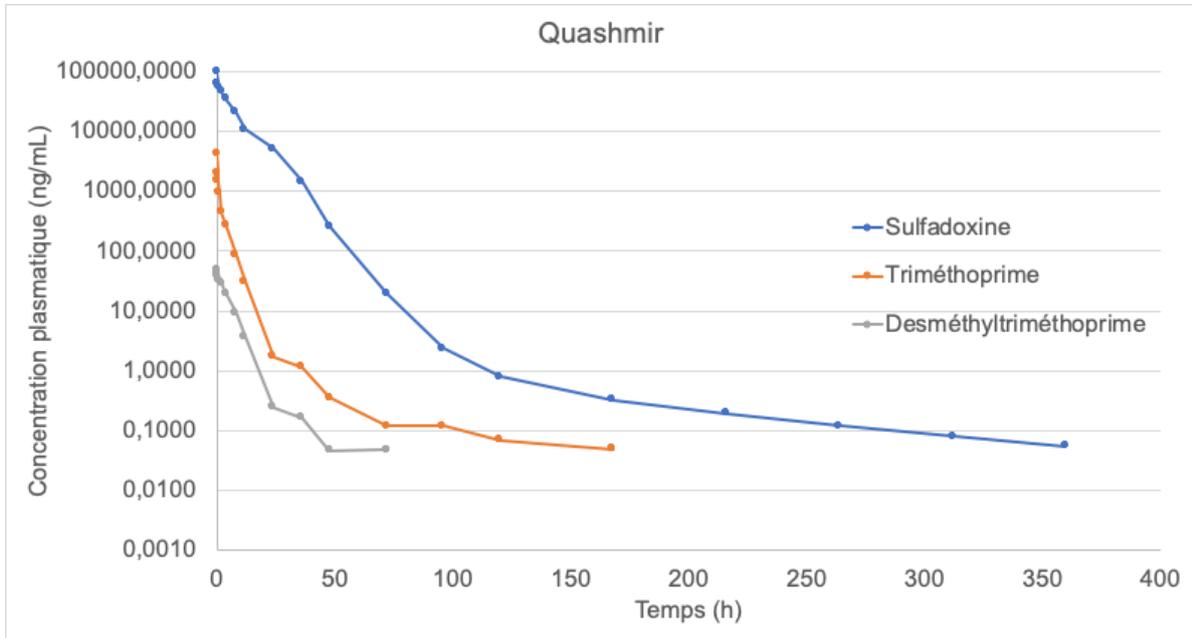
	SDX	TMP	DES
Cmax (intervalle) (ng/mL)	62600 - 98000	1830 - 4300	28,6 - 89,3
Temps de demi-vie plasmatique terminal moyen (h)	76,55	37,29	6,59
Clairance plasmatique moyenne (mL/h/kg)	32,32	801,67	-
Clairance rénale moyenne (mL/h/kg)	8,18	33,83	-
Tmax (intervalle) (h)	0,08 - 0,25	0,08 - 0,08	0,08 - 2
Tlast (h)	360	72	72
Volume de distribution moyen (mL/kg)	3472,11	54527,15	-
Temps moyen de résidence (h)	8,06	2,97	-



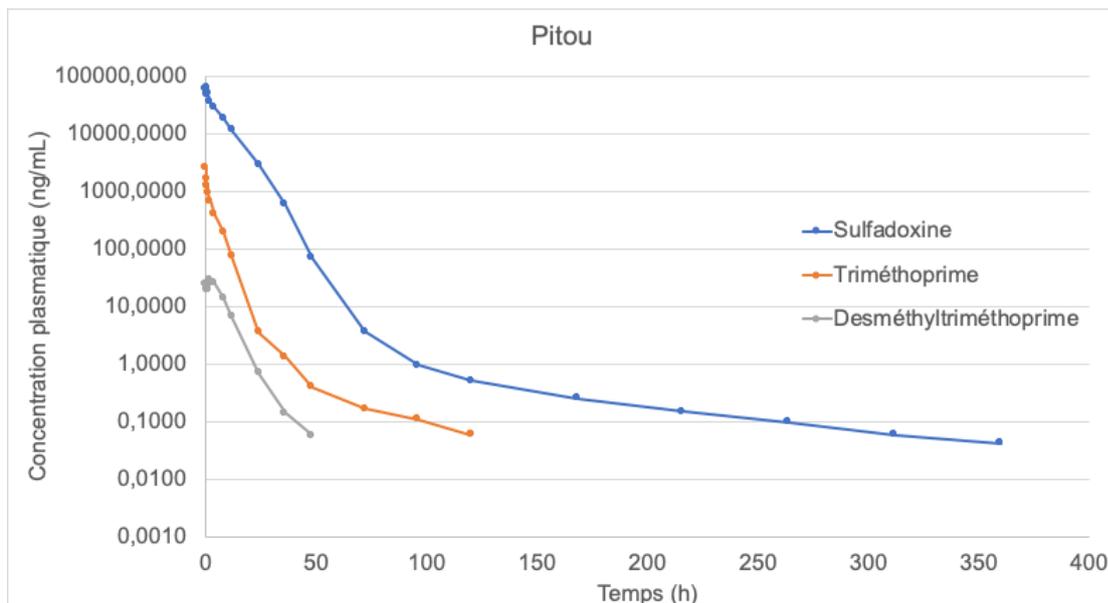
Graphique 9: Concentration plasmatique de la Sulfadoxine, du Triméthoprime et du Desméthyltriméthoprime au cours du temps chez Nobel après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg



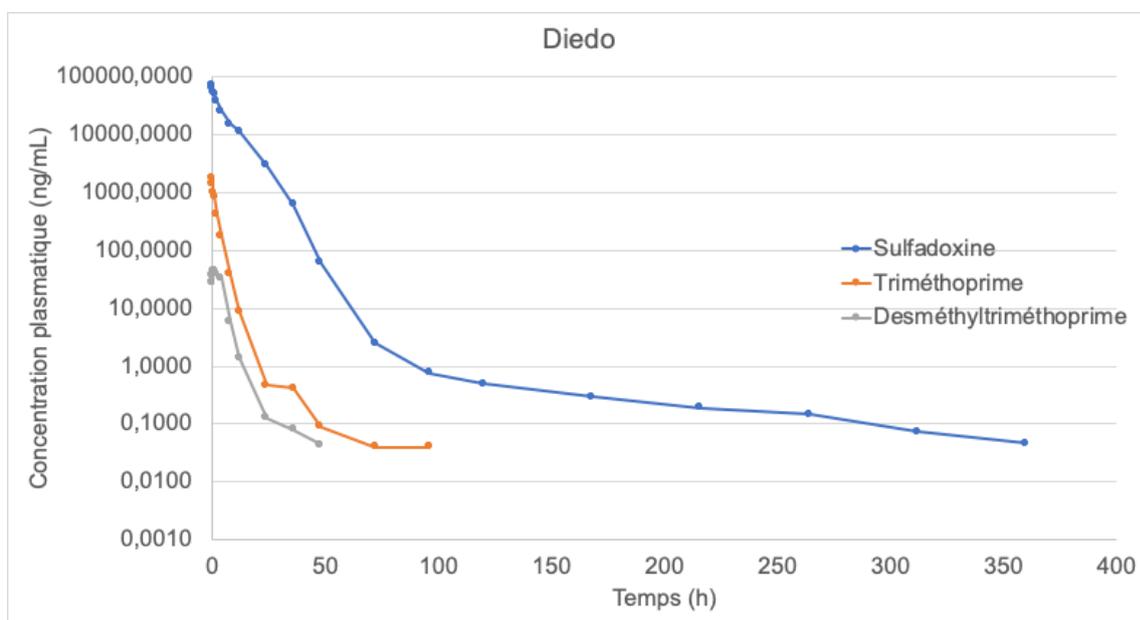
Graphique 10: Concentration plasmatique de la Sulfadoxine, du Triméthoprim et du Desméthyltriméthoprim au cours du temps chez Réve après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprim, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg



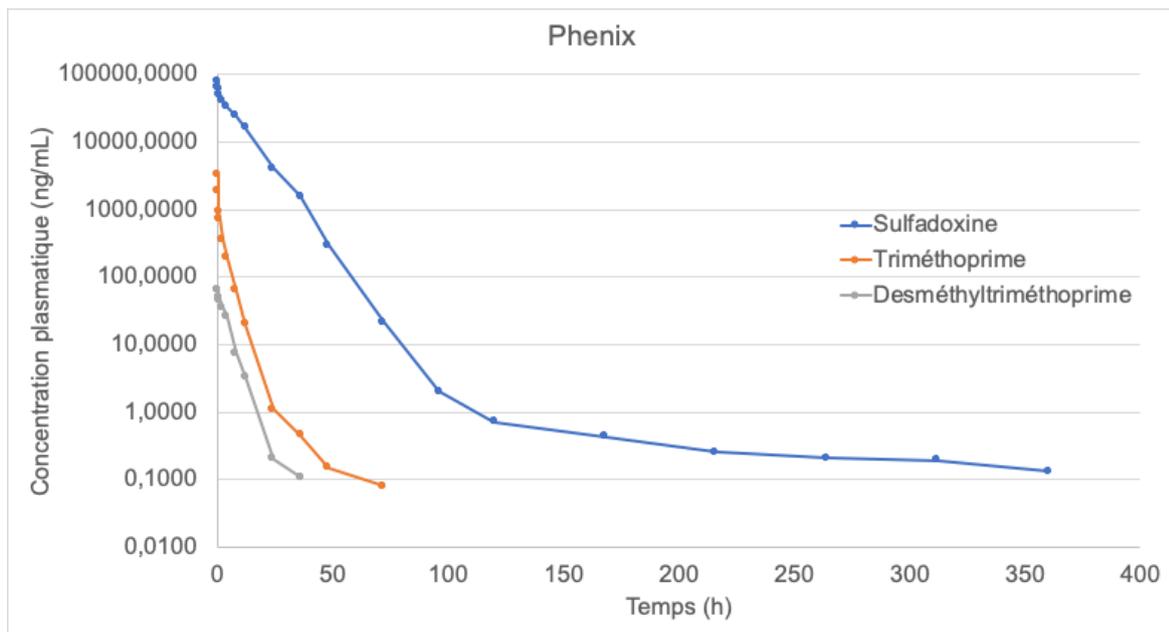
Graphique 11: Concentration plasmatique de la Sulfadoxine, du Triméthoprim et du Desméthyltriméthoprim au cours du temps chez Quashmir après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprim, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg



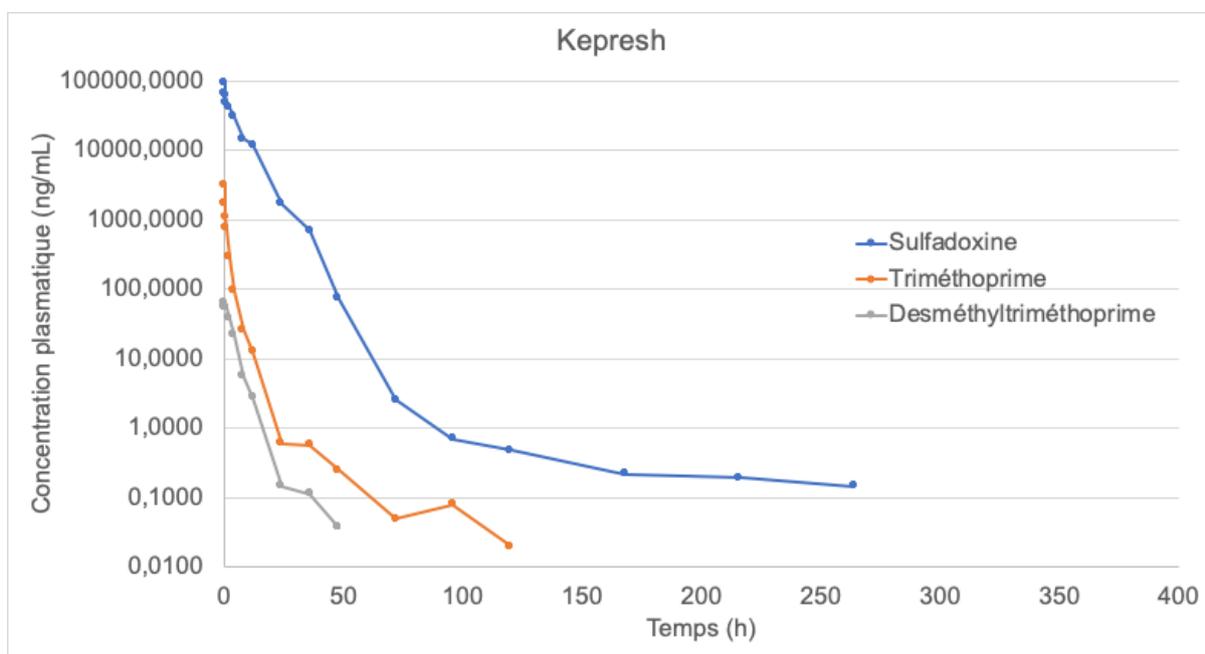
Graphique 12: Concentration plasmatique de la Sulfadoxine, du Triméthoprimé et du Desméthyltriméthoprimé au cours du temps chez Pitou après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprimé, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg



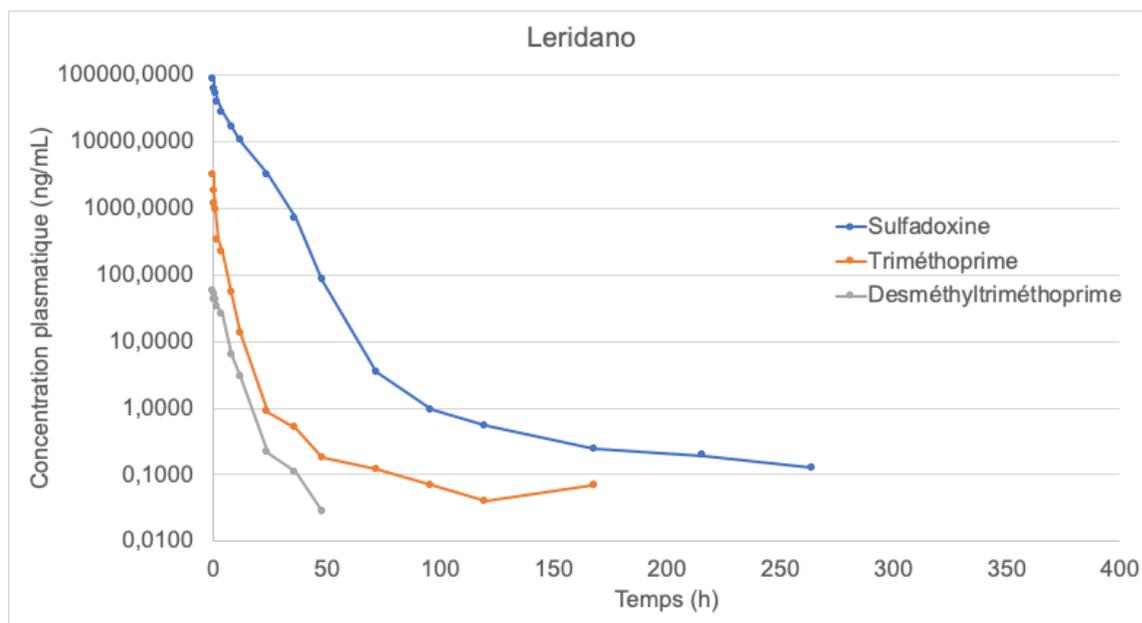
Graphique 13: Concentration plasmatique de la Sulfadoxine, du Triméthoprimé et du Desméthyltriméthoprimé au cours du temps chez Diedo après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprimé, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg



Graphique 14: Concentration plasmatique de la Sulfadoxine, du Triméthoprime et du Desméthyltriméthoprime au cours du temps chez Phénix après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg



Graphique 15: Concentration plasmatique de la Sulfadoxine, du Triméthoprime et du Desméthyltriméthoprime au cours du temps chez Kepresh après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg



Graphique 16: Concentration plasmatique de la Sulfadoxine, du Triméthoprimé et du Desméthyltriméthoprimé au cours du temps chez Leridano après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprimé, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg

### **3.2 Concentration urinaire de la sulfadoxine, du triméthoprimé et son principale métabolite le desméthyltriméthoprimé**

#### **Sulfadoxine**

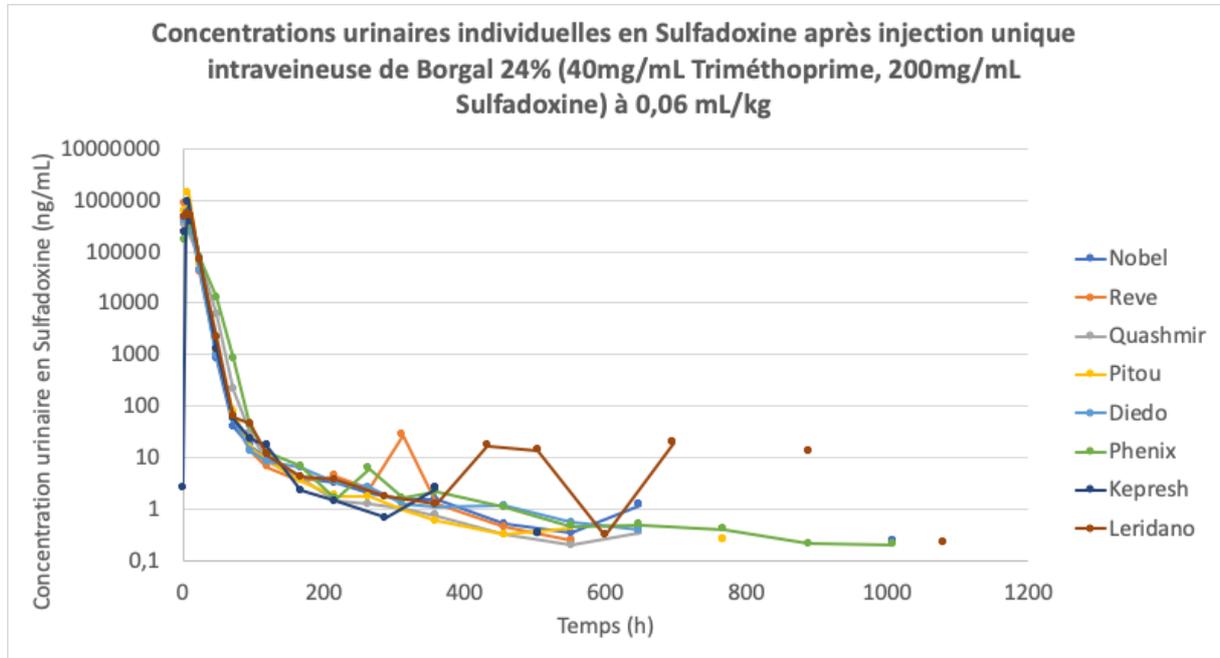
Le graphique 17 illustre l'évolution de la concentration urinaire en sulfadoxine au cours du temps suite à l'injection pour chacun des individus de l'étude, tandis que le graphique 18 représente l'évolution de la concentration urinaire moyenne en sulfadoxine suite à l'injection pour les chevaux de notre étude.

La sulfadoxine était présente dans les urines d'un cheval (Kepresh) à T0, à une concentration cependant très faible (2,59 ng/mL). Pour le reste des chevaux, elle était détectable dans les urines dès la première miction post-injection avec un pic de concentration atteint entre la première et la deuxième mictions (au plus tard 10h49 après l'injection) avec des valeurs entre 327 000 à 1 370 000 ng/mL (733 250 ng/mL en moyenne).

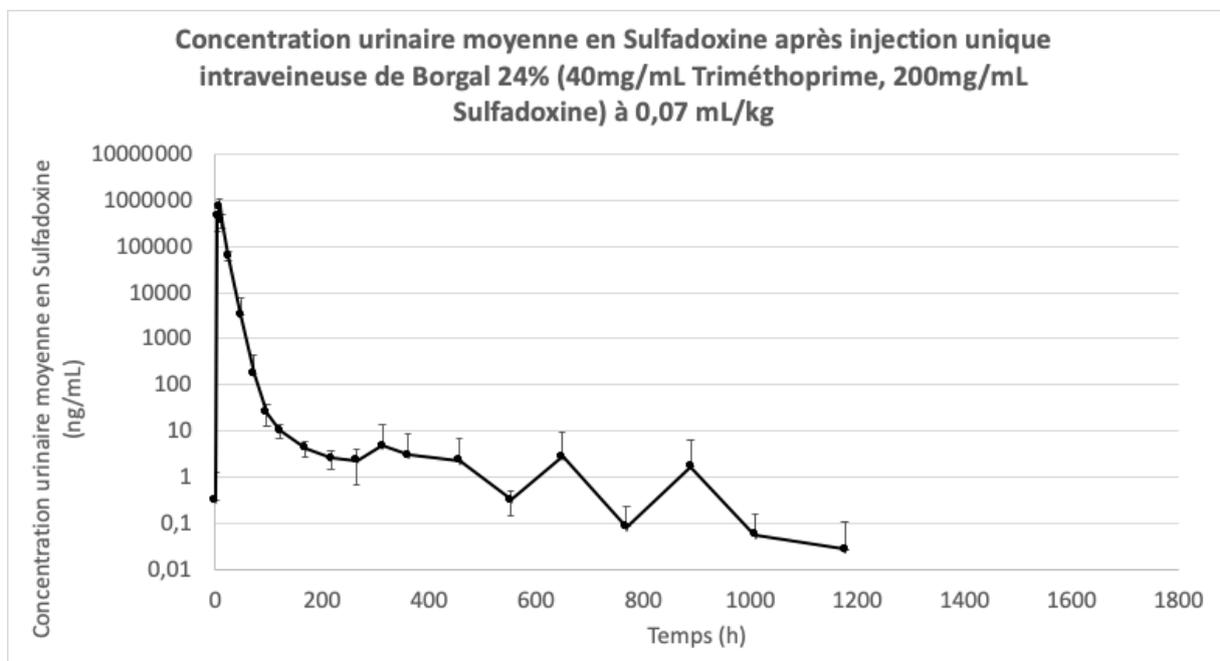
Après 888h (37 jours), la sulfadoxine n'était plus détectable chez 4 chevaux, cependant elle restait détectable jusqu'à 1080h (45 jours) après l'injection pour un cheval.

Chez Rêve, on observe une augmentation ponctuelle d'un facteur 10 de la concentration à 312h sans augmentation en parallèle au niveau du plasma. De plus, chez Leridano, la détection

de la sulfadoxine est intermittente avec des passages sous le seuil de détection entre 698h et 888h (soit entre 29 et 37 jours) et entre 888h et 1080h (soit entre 37 et 45 jours), avec une augmentation d'un facteur 10 de la concentration à 698h et 888h par rapport aux concentrations observées à 360h (15 jours).

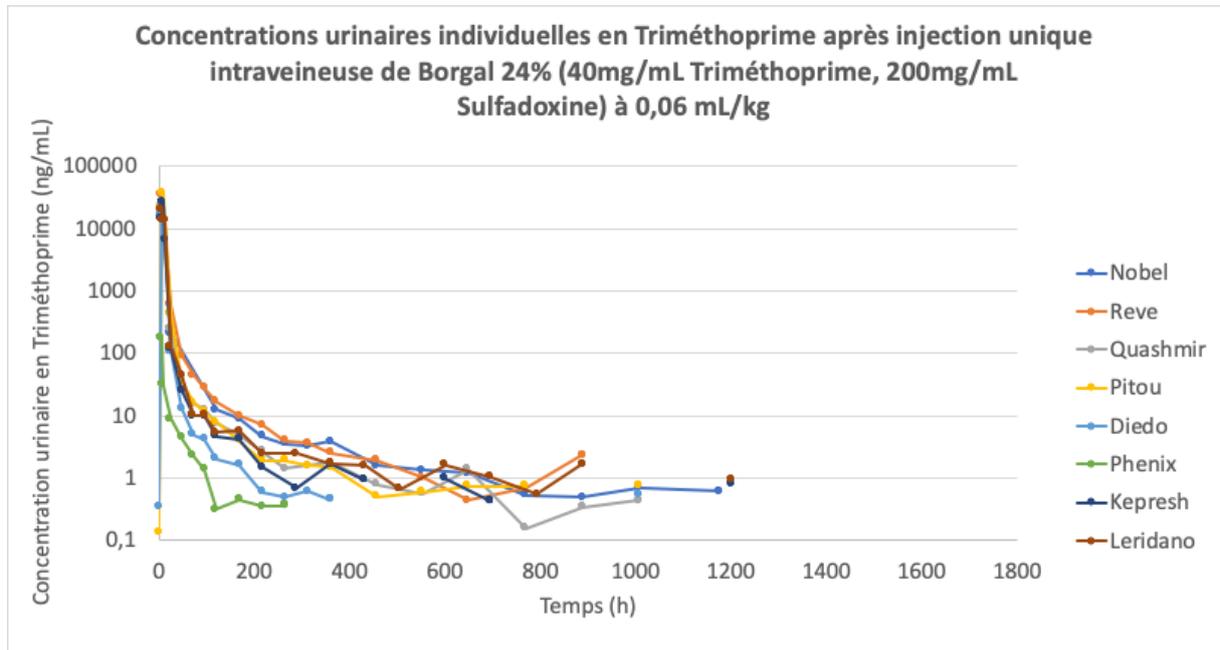


Graphique 18: Concentrations urinaires individuelles en Sulfadoxine au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprim, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg

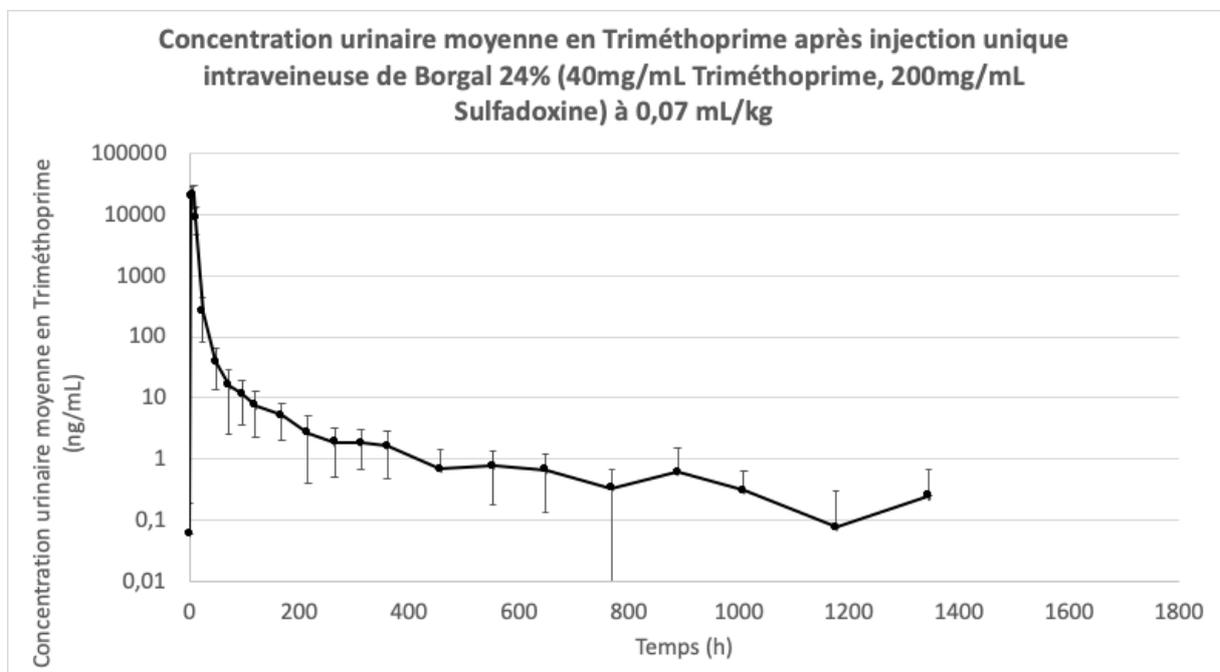


Graphique 17: Concentration urinaire moyenne en sulfadoxine au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprim, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg

## Triméthoprim



Graphique 19: Concentrations urinaires individuelles en triméthoprim au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprim, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg



Graphique 20: Concentration urinaire moyenne en triméthoprim au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprim, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg

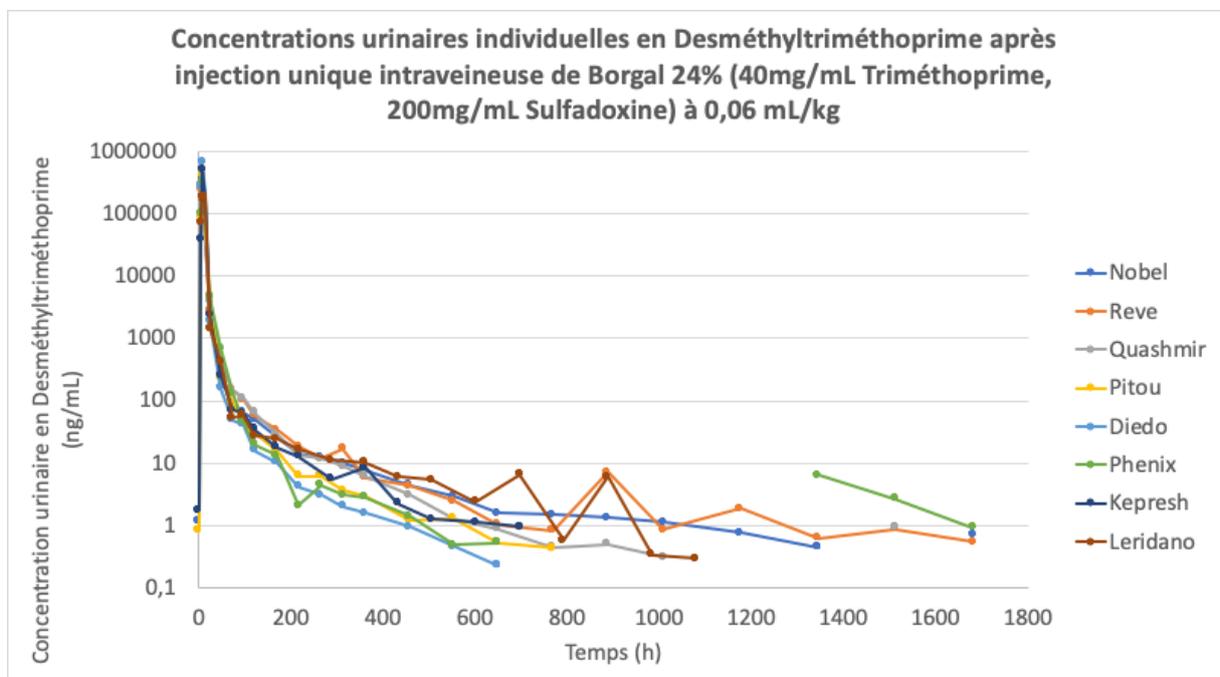
Le graphique 19 illustre l'évolution de la concentration urinaire en triméthoprime au cours du temps suite à l'injection pour chacun des individus de l'étude. Le graphique 20 quant à lui représente l'évolution de la concentration urinaire moyenne en triméthoprime suite à l'injection pour les chevaux de notre étude.

Le triméthoprime a lui aussi été détecté dans les urines à T0 chez certains chevaux (Pitou et Diedo) à des concentrations très faibles (0,139 ng/mL et 0,345 ng/mL respectivement). Pour le reste des chevaux, elle était détectable dans les urines dès la première miction post-injection avec un pic de concentration atteint entre la première et la deuxième mictions (au plus tard 8h36 après l'injection) avec des valeurs entre 11 100 et 36 800 ng/mL (24 475 ng/mL en moyenne).

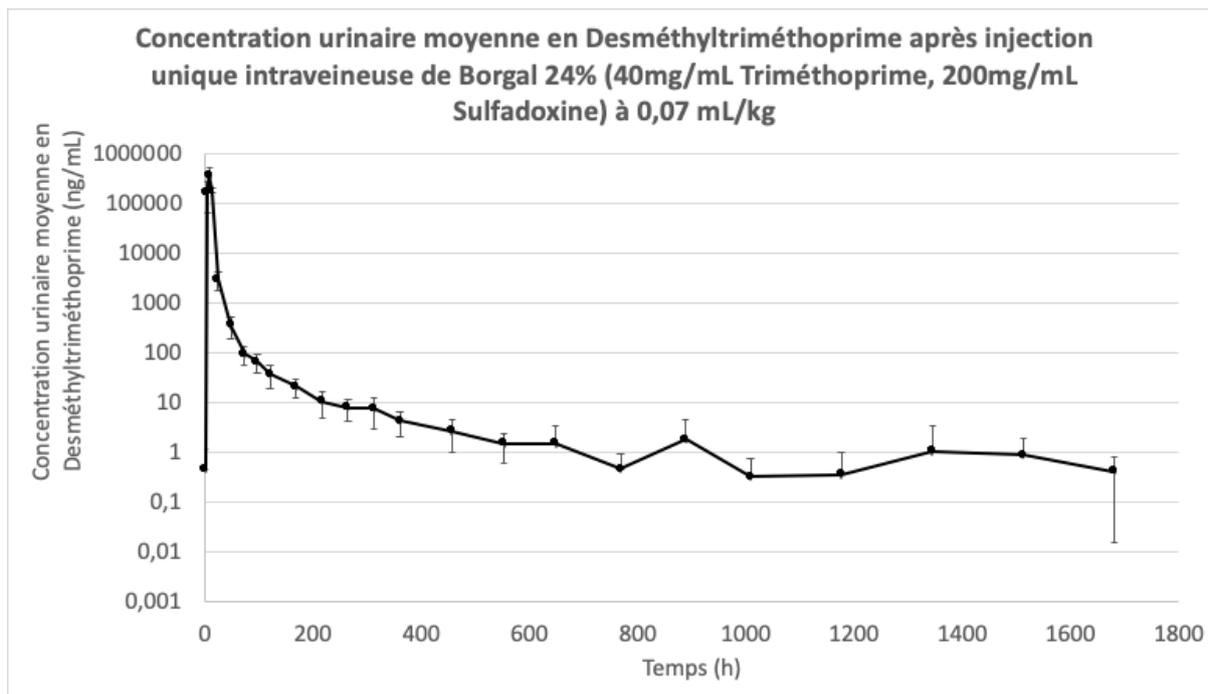
Le triméthoprime n'était plus détectable après 456h chez un cheval, mais il était présent dans les urines de deux chevaux 1200h (50 jours) après l'injection.

Chez trois chevaux (Diedo, Kepresh et Leridano), on observe une discontinuité avec une absence de détection de triméthoprime à partir 456h à 984h post injection puis un retour de la détection du triméthoprime à 1008h ou 1200h post injection selon le cheval.

### Desméthyltriméthoprime



Graphique 21: Concentrations urinaires individuelles en desméthyltriméthoprime au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg



Graphique 22: Concentration urinaire moyenne en desméthyltriméthoprime au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg

Les graphiques 21 et 22 illustrent respectivement l'évolution des concentrations urinaires individuelles et moyenne en desméthyltriméthoprime au cours du temps suite à l'injection pour chacun des individus de l'étude.

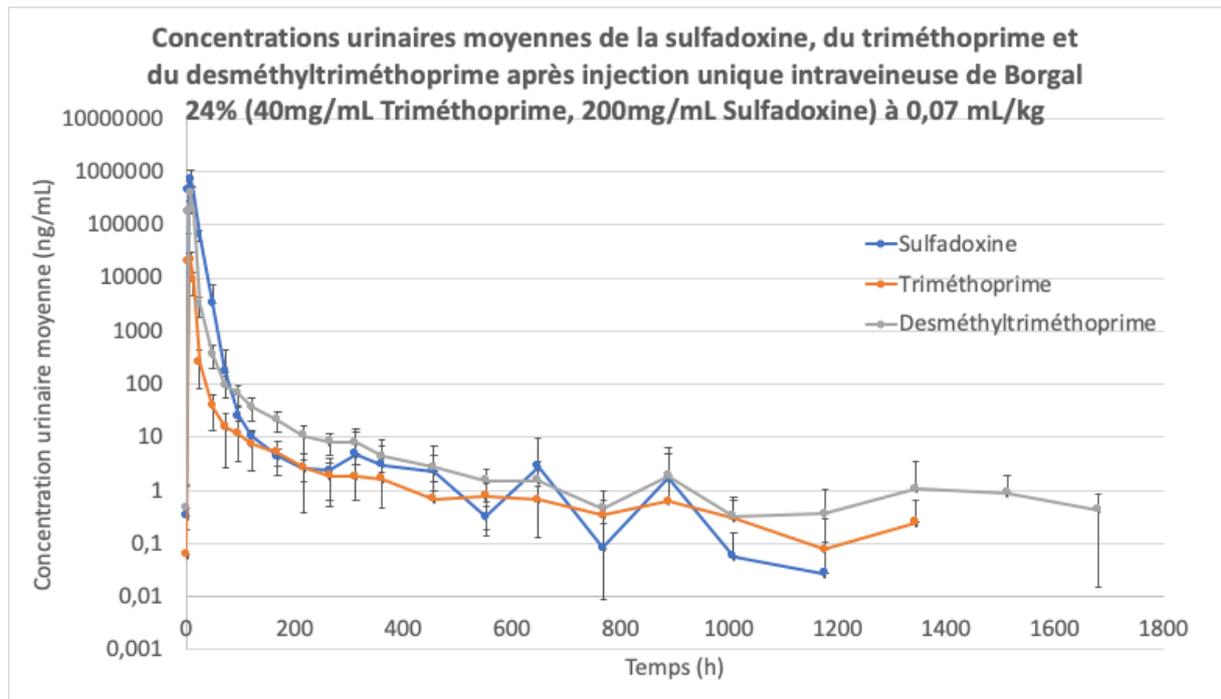
Le desméthyltriméthoprime est détectable à T0 chez trois chevaux (Nobel, Pitou et Kepresh) à des concentrations très faibles (entre 0,82 ng/mL et 1,73 ng/mL). Pour les autres chevaux de l'étude, le desméthyltriméthoprime est détectable dans les urines dès la première miction post-injection avec un pic de concentration atteint entre la première et la deuxième mictions (au plus tard 10h49 après l'injection) avec des valeurs entre 192 000 à 681 000 ng/mL (376 875 ng/mL en moyenne).

Le desméthyltriméthoprime n'est plus détectable après 768h chez un cheval, mais il est détectable jusqu'à 1680h après injection deux chevaux.

De la même manière que pour le triméthoprime, on constate une discontinuité dans la présence de desméthyltriméthoprime chez deux chevaux. En effet chez Phenix, le desméthyltriméthoprime n'est plus détecté dans les urines entre 658h et 1344h puis sa présence est de nouveau notée jusqu'au dernier prélèvement à 1680h (70jours). De même chez Quashmir, alors que le desméthyltriméthoprime n'était plus détecté depuis le prélèvement à 1008h, il est ponctuellement dosé à 1512h.

Chez Rêve, on peut observer une légère augmentation à 888h (37 jours) qui peut être mise en corrélation avec la légère augmentation terminale en triméthoprine au même prélèvement (888h).

Enfin chez Leridano, on retrouve une tendance observée pour la sulfadoxine avec deux augmentations, respectivement à 696h et 888h.

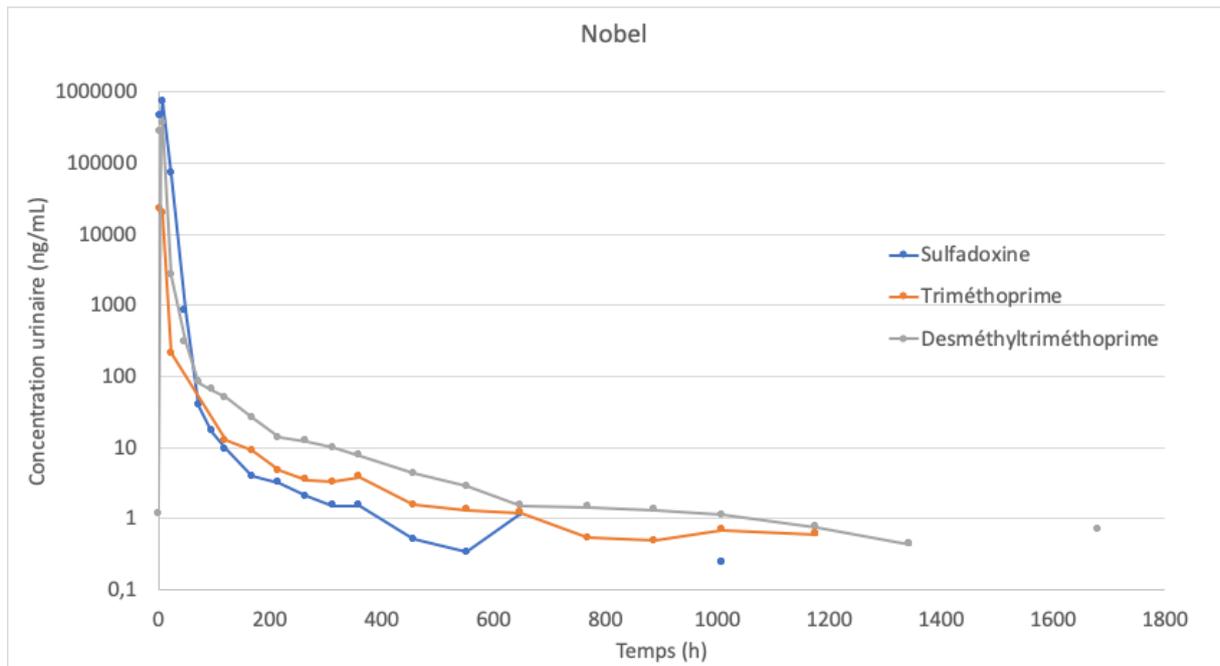


Graphique 23: Concentration plasmatique moyenne de la Sulfadoxine, du Triméthoprine et du Desméthyltriméthoprine au cours du temps après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprine, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg

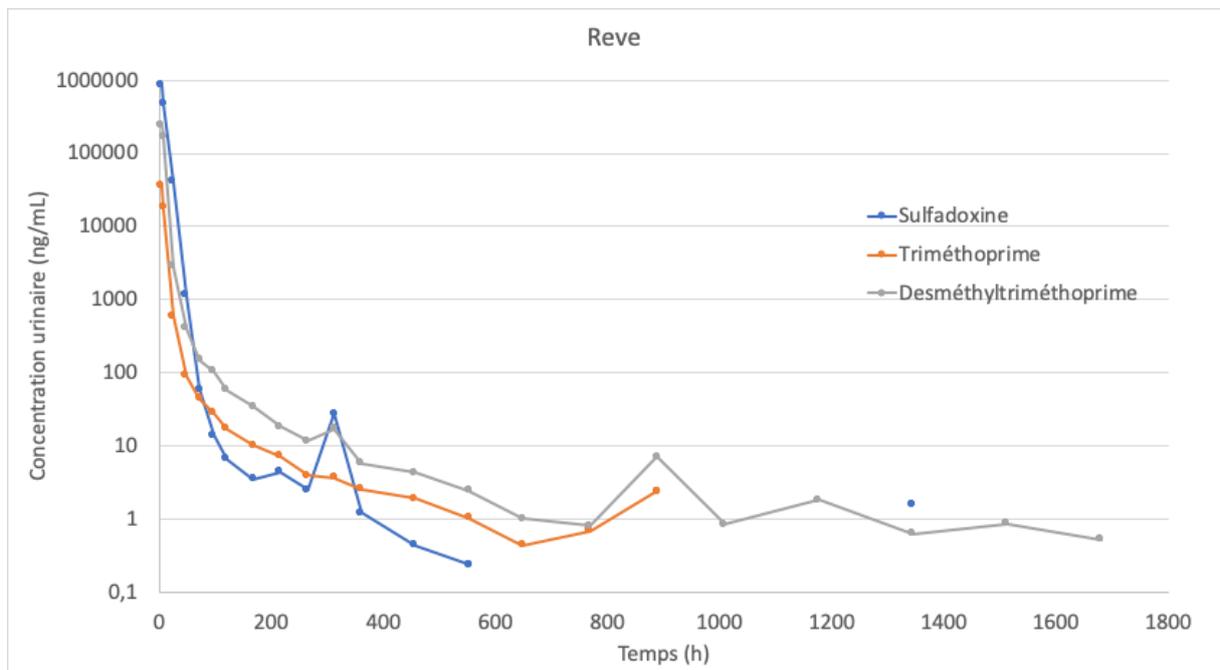
Le graphique ci-dessus récapitule l'évolution des concentrations moyennes pour chacune des molécules étudiées.

La sulfadoxine est détectée jusqu'à 56 jours dans les urines. Le triméthoprine est mis en évidence jusqu'à 50 jours dans les urines contre 70 jours pour son métabolite le desméthyltriméthoprine.

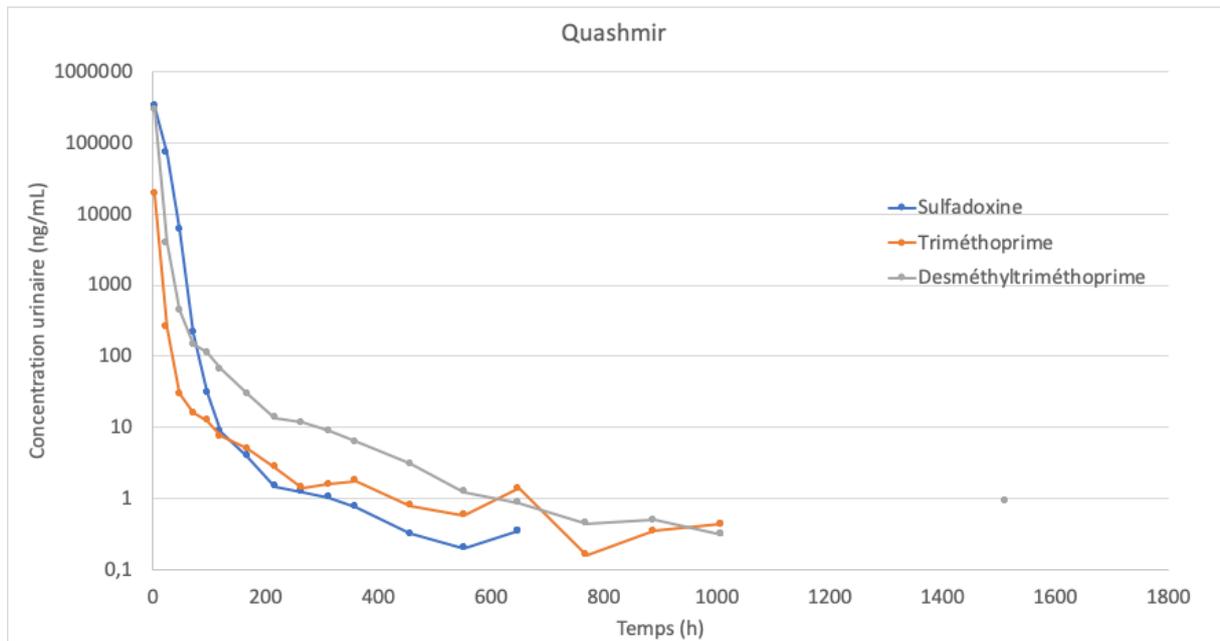
Les graphiques 24 à 31 illustrent l'évolution de la concentration urinaire en sulfadoxine, triméthoprine et desméthyltriméthoprine au cours du temps pour chacun des chevaux suite à l'injection.



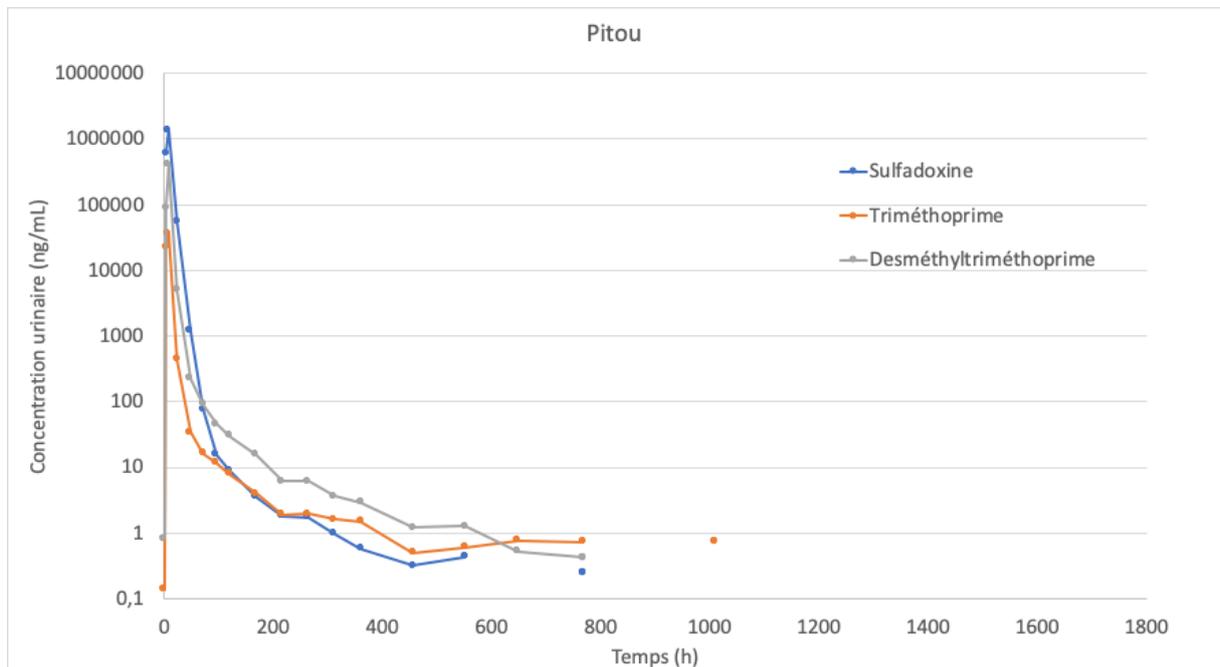
Graphique 24: Concentration urinaire de la Sulfadoxine, du Triméthoprime et du Desméthyltriméthoprime au cours du temps chez Nobel après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg



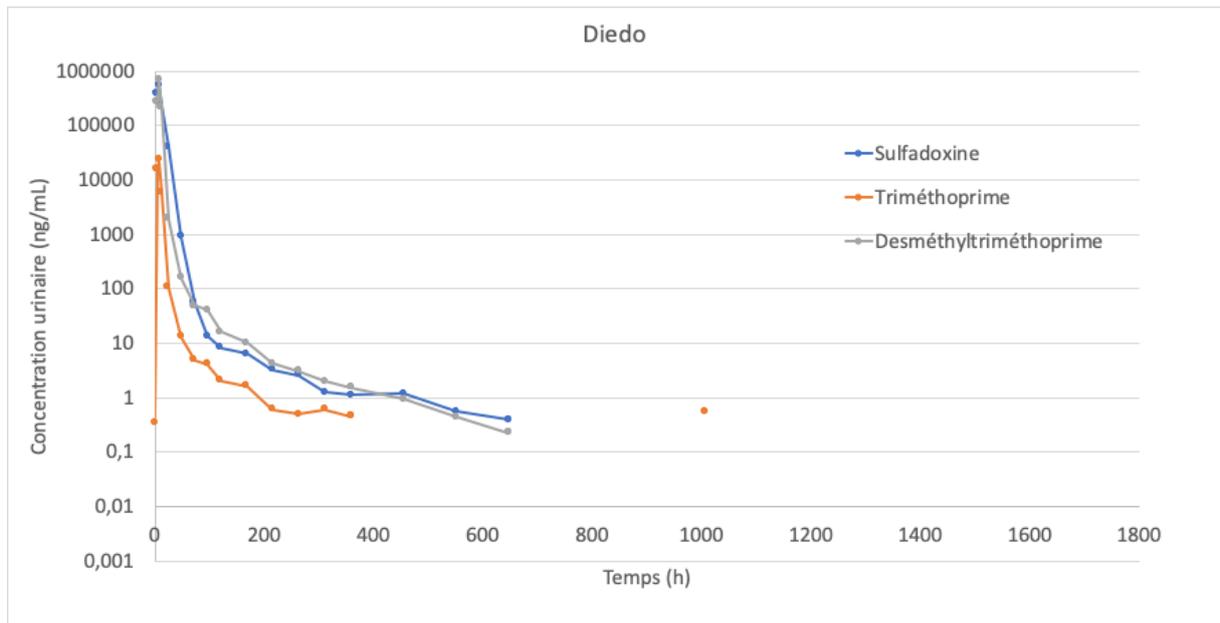
Graphique 25: Concentration urinaire de la Sulfadoxine, du Triméthoprime et du Desméthyltriméthoprime au cours du temps chez Reve après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg



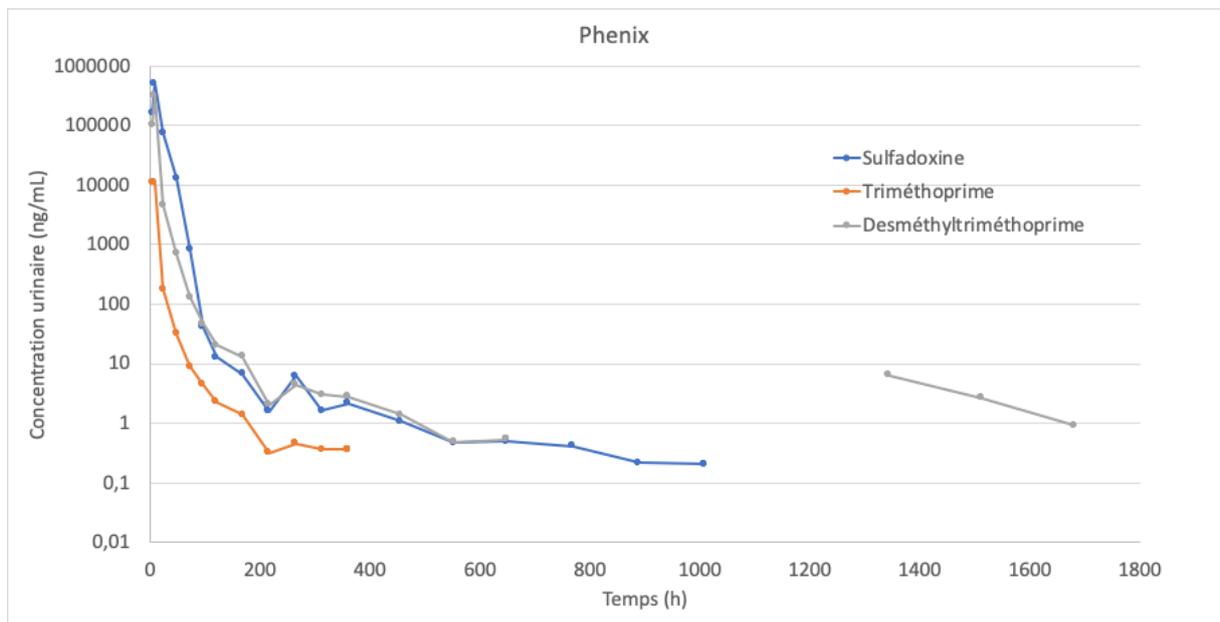
Graphique 26: Concentration urinaire de la Sulfadoxine, du Triméthoprimé et du Desméthyltriméthoprimé au cours du temps chez Quashmir après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprimé, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg



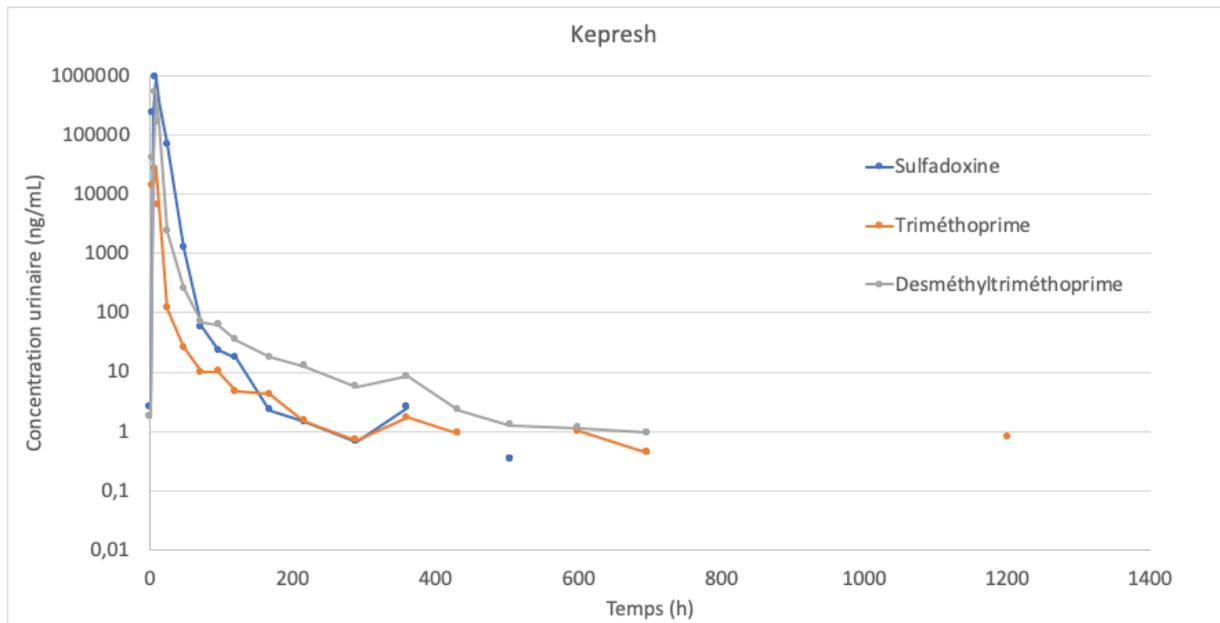
Graphique 27: Concentration urinaire de la Sulfadoxine, du Triméthoprimé et du Desméthyltriméthoprimé au cours du temps chez Pitou après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprimé, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg



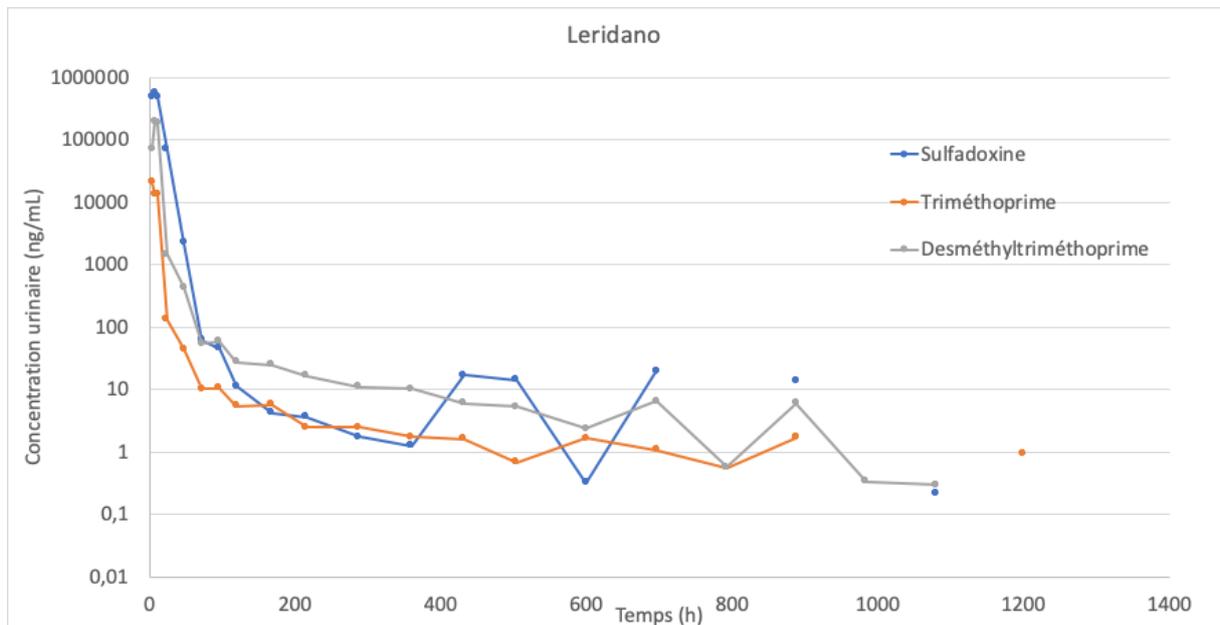
Graphique 28: Concentration urinaire de la Sulfadoxine, du Triméthoprimé et du Desméthyltriméthoprimé au cours du temps chez Diedo après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprimé, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg



Graphique 29: Concentration urinaire de la Sulfadoxine, du Triméthoprimé et du Desméthyltriméthoprimé au cours du temps chez Phénix après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprimé, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg



Graphique 30: Concentration urinaire de la Sulfadoxine, du Triméthoprime et du Desméthyltriméthoprime au cours du temps chez Kepresh après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg



Graphique 31: Concentration urinaire de la Sulfadoxine, du Triméthoprime et du Desméthyltriméthoprime au cours du temps chez Leridano après une injection intraveineuse de Borgal 24% (40mg/mL Triméthoprime, 200mg/mL Sulfadoxine) à 0,07 mL/kg

### 3.3 Détermination des temps de détection

Le temps de détection dans le plasma (ou dans les urines) est l'intervalle de temps entre la dernière administration de médicament et le moment où la concentration plasmatique (ou urinaire) du médicament devient inférieure à la « *Harmonized Screening Limit* » (HSL) ou « limite de quantification » (LOQ) pour tous les chevaux de l'étude.

Le tableau ci-dessous présente les temps de détection déterminés pour différentes limites de quantification par lecture graphique. On remarque que pour une molécule donnée, le temps de détection peut être identique malgré les différences de LOQ. Cela peut s'expliquer par l'espacement des prélèvements ne permettant pas d'obtenir de manière détaillée la cinétique d'élimination de la molécule.

Tableau 7: Temps de détection de la sulfadoxine, du triméthoprime et du desméthyltriméthoprime dans le plasma et l'urine par lecture graphique selon les limites de quantification (LOQ)

<b>Sulfadoxine</b>	Plasma	<b>LOQ (ng/mL)</b>	<b>0,05</b>	<b>0,1</b>	<b>0,5</b>
		DT (h)	>360	>360	168
	Urine	<b>LOQ (ng/mL)</b>	<b>0,05</b>	<b>0,1</b>	<b>1</b>
		DT (h)	1200	1200	984
<b>Triméthoprime</b>	Plasma	<b>LOQ (ng/mL)</b>	<b>0,01</b>	<b>0,025</b>	<b>0,05</b>
		DT (h)	216	216	216
	Urine	<b>LOQ (ng/mL)</b>	<b>0,05</b>	<b>0,1</b>	<b>1</b>
		DT (h)	1344	1344	984
<b>Desméthylriméthoprime</b>	Plasma	<b>LOQ (ng/mL)</b>	<b>0,01</b>	<b>0,025</b>	<b>0,05</b>
		DT (h)	96	96	96
	Urine	<b>LOQ (ng/mL)</b>	<b>0,05</b>	<b>0,1</b>	<b>1</b>
		DT (h)	>1680	>1680	1680

Dans le plasma, on constate que pour une LOQ de 0,05ng/mL, c'est la sulfadoxine qui présente le temps de détection le plus long observé avec un temps supérieur à 360h, contre 216h pour le triméthoprime et 96h pour le desméthyltriméthoprime. De plus pour des LOQ identiques, les temps de détection du desméthyltriméthoprime sont 2,25 fois inférieurs à ceux du triméthoprime.

Cependant dans les urines, pour des LOQ identiques, c'est le desméthyltriméthoprime qui possèdent les temps de détection les plus longs avec une valeur de 1680h pour une LOQ de 1ng/mL contre 984h pour la sulfadoxine et le triméthoprime.

Les temps de détection ont ensuite été déterminés par calcul avec la méthode de Toutain et Lassourd et l'équation 3 (Toutain, Lassourd 2002).

Les valeurs de pente d'élimination terminale (LambdaZ) et d'intercept de la sulfadoxine et du triméthoprime nécessaires au calcul ont été obtenues lors de l'analyse pharmacocinétique réalisée avec le logiciel Pkanalix®. Elles sont listées dans les tableaux 8 et 9.

Tableau 8: Paramètres plasmatiques et urinaires déterminés par le logiciel Pkanalix® pour la sulfadoxine et nécessaires au calcul du temps de détection

<i>Chevaux</i>	<i>Sulfadoxine</i>			
	<b>Plasma</b>		<b>Urine</b>	
	Lambda Z (h <sup>-1</sup> )	Intercept (ng/mL)	Lambda Z (h <sup>-1</sup> )	Intercept (ng/mL)
<i>Nobel</i>	0,0108	1,7406	0,0031	32,9762
<i>Reve</i>	0,0108	1,2405	0,0079	825,0875
<i>Quashmir</i>	0,0089	2,0258	0,0044	17,9970
<i>Pitou</i>	0,0095	1,5769	0,0043	29,0202
<i>Diedo</i>	0,0101	3,7446	0,0056	319,4479
<i>Phenix</i>	0,0059	1,2490	0,0036	63,5477
<i>Keprash</i>	0,0066	0,5958	0,0104	5128,6138
<i>Leridano</i>	0,0099	3,0775	0,0033	43,9440

Pour la sulfadoxine dans le plasma, LambdaZ est compris entre 0.0060h<sup>-1</sup> et 0.0108h<sup>-1</sup> et l'intercept entre 0,60 ng/mL et 3,75 ng/mL. LambdaZ est compris entre 0,0031h<sup>-1</sup> et 0,0104h<sup>-1</sup> et l'intercept est compris entre 18,00 ng/mL et 5128,61 ng/mL pour les valeurs urinaires.

Tableau 9: Paramètres plasmatiques et urinaires déterminés par le logiciel Pkanalix® pour le triméthoprime et nécessaires au calcul des temps de détection

Chevaux	Triméthoprime			
	Plasma		Urine	
	Lambda Z (h <sup>-1</sup> )	Intercept (ng/mL)	Lambda Z (h <sup>-1</sup> )	Intercept (ng/mL)
<i>Nobel</i>	0,0069	0,0143	0,0024	69,4384
<i>Reve</i>	0,0155	0,5872	0,0049	741,8225
<i>Quashmir</i>	0,0118	0,0837	0,0026	16,7456
<i>Pitou</i>	0,0243	1,2439	0,0014	5,1749
<i>Diedo</i>	0,0140	0,0103	0,0063	20,2628
<i>Phenix</i>	0,0371	1,2726	0,0076	22,8718
<i>Kepresh</i>	0,0296	0,4660	0,0033	31,7395
<i>Leridano</i>	0,0095	0,0245	0,0016	22,8665

Pour le triméthoprime dans le plasma, LambdaZ est compris entre 0,0069 h<sup>-1</sup> et 0,0371h<sup>-1</sup> et l'intercept entre 0,01ng/mL et 1,27ng/mL. Dans les urines, LambdaZ est compris entre 0,0014h<sup>-1</sup> et 0,0076h<sup>-1</sup> et Log(intercept) est compris entre 5,18ng/mL et 741ng/mL.

Tableau 10: Paramètres plasmatiques et urinaires déterminés par le logiciel Pkanalix® pour le desméthyltriméthoprime et nécessaires au calcul des temps de détection

Chevaux	Desméthyltriméthoprime			
	Plasma		Urine	
	Lambda Z (h <sup>-1</sup> )	Intercept (ng/mL)	Lambda Z (h <sup>-1</sup> )	Intercept (ng/mL)
<i>Nobel</i>	0,1094	1953,4397	0,0024	466,3371
<i>Reve</i>	0,0104	0,0310	0,0008	6,5751
<i>Quashmir</i>	0,0362	0,2021	0,0052	3790,5305
<i>Pitou</i>	0,1404	3005,3842	0,0052	903,4414
<i>Diedo</i>	0,0438	0,1013	0,0077	2271,4334
<i>Phenix</i>	0,0534	0,4977	0,0059	832,9137
<i>Kepresh</i>	0,0574	0,4020	0,0064	9136,9237
<i>Leridano</i>	0,0853	4,2815	0,0051	9283,2490

Ainsi en appliquant la méthode de Toutain et Lassourd avec les paramètres déterminés ci-dessus, on obtient les temps de détection calculés pour chacun des chevaux de l'étude dans le plasma et l'urine et pour les deux molécules étudiées.

Tableau 11: Temps de détection observés et calculés de la sulfadoxine dans le plasma pour les différentes limites de quantification chez les 8 chevaux de l'étude

	<b>Temps de détection Sulfadoxine</b>					
	LOQ = 0,05		LOQ = 0,1		LOQ = 0,5	
Chevaux	Observé	Calculé	Observé	Calculé	Observé	Calculé
Nobel	312	300,78	264	236,36	120	86,79
Reve	264	285,52	264	221,46	120	72,71
Quashmir	>360	369,31	312	291,79	168	111,80
Pitou	360	337,73	264	264,42	168	94,22
Diedo	360	353,38	312	284,75	120	125,40
Phenix	>360	523,76	>360	406,36	168	133,76
Kepresh	>264	421,16	>264	315,81	120	71,17
Leridano	>264	352,52	>264	282,38	168	119,53

Tableau 12: Temps de détection observés et calculés de la sulfadoxine dans l'urine pour les différentes limites de quantification chez les 8 chevaux de l'étude

	<b>Temps de détection Sulfadoxine Urine (h)</b>					
	LOQ = 0,05		LOQ = 0,1		LOQ = 1	
Chevaux	Observé	Calculé	Observé	Calculé	Observé	Calculé
Nobel	1176	1437,10	1176	1216,42	768	483,35
Reve	648	752,48	648	664,26	456	371,20
Quashmir	768	972,98	768	814,32	360	287,30
Pitou	888	1044,37	888	882,01	312	342,63
Diedo	768	977,80	768	854,58	552	445,23
Phenix	1176	1318,36	1176	1127,94	552	495,36
Kepresh	600	644,16	600	577,58	432	356,39
Leridano	1200	1394,66	1200	1186,26	984	493,96

Tableau 13: Temps de détection observés et calculés du triméthoprimine dans le plasma pour les différentes limites de quantification chez les 8 chevaux de l'étude

	Temps de détection Plasma Triméthoprimine					
	LOQ = 0,01		LOQ = 0,025		LOQ = 0,05	
Chevaux	Observé	Calculé	Observé	Calculé	Observé	Calculé
Nobel	216,00	398,83	216	266,51	216	166,42
Reve	216,00	281,83	216	222,79	216	178,13
Quashmir	216,00	297,97	216	220,58	216	162,04
Pitou	168,00	193,65	168	155,90	168	127,34
Diedo	120,00	187,17	120	121,63	72	72,05
Phenix	96,00	127,02	96	102,31	96	83,61
Keprish	168,00	144,28	168	113,35	120	89,94
Leridano	216,00	315,70	216	219,07	216	145,98

Tableau 14: Temps de détection observés et calculés du triméthoprimine dans l'urine pour les différentes limites de quantification chez les 8 chevaux de l'étude

	Temps de détection Triméthoprimine Urine (h)					
	LOQ = 0,05		LOQ = 0,1		LOQ = 1	
Chevaux	Observé	Calculé	Observé	Calculé	Observé	Calculé
Nobel	1344,00	1993,95	1344	1708,24	768	759,11
Reve	888,00	1191,56	888	1050,76	888	583,04
Quashmir	1176,00	1641,88	1176	1372,17	768	476,23
Pitou	1176,00	2703,81	1176	2198,60	456	520,34
Diedo	1176,00	681,20	1176	571,45	216	206,89
Phenix	456,00	570,18	456	479,43	168	177,97
Keprish	>1200	1378,70	>1200	1166,21	432	460,33
Leridano	>1200	2720,13	>1200	2287,19	984	848,97

Tableau 15: Temps de détection observés et calculés du desméthyltriméthoprimine dans le plasma pour les différentes limites de quantification chez les 8 chevaux de l'étude

	<b>Temps de détection Plasma Desméthyltriméthoprimine</b>					
	LOQ = 0,01		LOQ = 0,025		LOQ = 0,05	
<b>Chevaux</b>	Observé	Calculé	Observé	Calculé	Observé	Calculé
Nobel	96	72,18	96	63,80	96	57,46
Reve	96	298,67	96	210,31	96	143,47
Quashmir	96	107,97	96	82,67	48	63,53
Pitou	72	57,57	72	51,05	72	46,11
Diedo	72	82,36	72	61,46	48	45,65
Phenix	48	80,55	48	63,39	48	50,42
Kepresh	72	73,37	72	57,40	48	45,32
Leridano	72	61,38	72	50,64	48	42,51

Tableau 16: Temps de détection observés et calculés du desméthyltriméthoprimine dans l'urine pour les différentes limites de quantification chez les 8 chevaux de l'étude

	<b>Temps de détection Desméthyltriméthoprimine Urine (h)</b>					
	LOQ = 0,05		LOQ = 0,1		LOQ = 1	
<b>Chevaux</b>	Observé	Calculé	Observé	Calculé	Observé	Calculé
Nobel	>1680	2390,06	>1680	2097,59	1176	1126,03
Reve	>1680	4999,52	>1680	4090,83	1344	1072,23
Quashmir	1512	1274,11	1512	1139,78	648	693,55
Pitou	888	1137,98	888	1005,45	648	565,18
Diedo	768	827,20	768	736,93	456	437,08
Phenix	>1680	1006,35	>1680	888,45	1680	496,79
Kepresh	792	1084,08	792	976,06	696	617,24
Leridano	1200	1369,14	1200	1232,85	984	780,12

Afin de limiter les faux négatifs lors d'un contrôle des médications, le temps de détection officiel choisi serait au minimum le plus long pour les chevaux de notre étude.

Ainsi, pour la sulfadoxine, en prenant 0,05 ng/mL comme valeur pour la LOQ, le temps de détection observé dans le plasma est supérieur à 360h (de 264h à plus de 360h) soit plus de 15 jours sur les 8 chevaux de l'étude, et le temps de détection calculé est de 524h (de 286h à 524h) soit environ 22 jours. Pour les quatre chevaux présentant un temps de détection défini pour une LOQ de 0,05 ng/mL (Nobel, Reve, Pitou et Diedo), l'écart moyen entre le temps de détection observé et le temps de détection calculé est de 15h (avec des valeurs d'écart comprises entre 6,6h et 22,3h).

Dans les urines, pour une LOQ de 1 ng/mL, le temps de détection observé de la sulfadoxine pour les chevaux de l'étude est de 984h (de 312h à 984h) soit 41 jours, contre 495h (entre 287h à 495h) pour le temps de détection calculé, soit environ 20,5 jours. L'écart moyen entre le temps de détection observé et le temps de détection calculé est de 150h (avec des écarts allant de 31 à 490h).

Dans le plasma pour une LOQ de 0,05 ng/mL, le triméthoprime présente un temps de détection observé de 216h (de 72 à 216h) soit 9 jours et un temps de détection calculé de 178h (72h à 178h) soit environ 7,5 jours. L'écart entre le temps de détection observé et le temps de détection calculés évoluent entre 0,05h et 70h selon les chevaux avec une valeur d'écart moyen de 37h.

Dans les urines pour une LOQ de 1ng/mL, son temps de détection observé est de 984h (de 168 à 984h) soit 41 jours et son temps de détection calculé est de 849h (entre 178 et 849h) soit 35 jours environ. L'écart moyen entre les temps de détection observé et calculé est de 107h (de 9 à 305h d'écart selon les chevaux).

Le desméthyltriméthoprime, pour une LOQ de 0,05 ng/mL, présente un temps de détection observé dans le plasma de 96h (48h à 96h) soit 4 jours, contre 143h (entre 42,5h et 143h) pour son temps de détection calculé, soit environ 6 jours, avec un écart moyen entre les deux temps de 17,5h (de 2h à 47,5h selon les chevaux).

Pour une LOQ de 1ng/mL dans les urines, le temps de détection observé pour le desméthyltriméthoprime est de 1680h (entre 456 et 1680) soit 70 jours, tandis que le temps de détection calculé est de 1126h (entre 437h et 1126h) soit environ 47 jours. Si on exclut Phenix, chez qui on observe un rebond de la concentration urinaire en desméthyltriméthoprime sur les

trois derniers prélèvements, l'écart moyen entre les temps de détection observé et calculé est de 107h (de 19 à 272h d'écart selon les chevaux).

Nous pouvons constater que les écarts entre les temps de détection observés et les temps de détection calculés sont plus importants pour l'urine que pour le plasma, ce qui peut s'expliquer par les prélèvements plus espacés pour les urines en fin d'élimination par rapport aux prélèvements sanguins et aussi par la variabilité induite par la dilution de l'urine.

### 3.4 Détermination des temps de retrait

Le temps de retrait d'une substance est le temps nécessaire pour que la concentration plasmatique ou urinaire de celle-ci deviennent inférieure à une concentration définie comme sans effet. Comme nous l'avons vu précédemment (2.6.3 Détermination du temps de retrait), cette concentration maximale autorisée pour une substance à effet systémique peut être déterminée via la méthode Toutain-Lassourd et correspond à l'IPC (*Irrelevant Plasma Concentration*) (ou IUC : *irrelevant Urinary concentration*), c'est-à-dire la plus petite concentration qui pourrait avoir un effet.

Puisque la sulfadoxine et le triméthoprime, nous avons cherché la plus petite concentrations qui pourrait avoir un effet sur les bactéries. D'après EUCAST, la valeur la plus faible de CMI pour le sulfaméthoxazole, qu'on considèrera équivalent à la sulfadoxine est de 0.5 µg/mL et pour le triméthoprime de 0.002 µg/mL.

Tableau 17: Résultats des paramètres calculés: EPC, IPC de la sulfadoxine dans le plasma pour chacun des chevaux de l'étude

<i>Paramètre</i>	<i>Clairance plasmatique (mL/24h)</i>	<i>EPC (ng/mL)</i>	<i>IPC (ng/mL)</i>
<i>Formule</i>	Cl(mL/h) x 24h	Dose/Cl	EPC/500
<i>Nobel</i>	452004,06	15040,35	30,08
<i>Reve</i>	471604,88	15691,86	31,38
<i>Quashmir</i>	258445,89	20897,45	41,79
<i>Pitou</i>	404145,02	16826,19	33,65
<i>Diedo</i>	424918,27	16473,80	32,95
<i>Phenix</i>	304637,08	21657,64	43,32
<i>Keprash</i>	457907,52	16375,36	32,75
<i>Leridano</i>	376745,31	16983,36	33,97

Si on compare les IPC obtenues dans le tableau 17 aux valeurs des intercept dans le sang pour la sulfadoxine (tableau 8), on remarque qu'elles sont très supérieures aux intercepts. En effet, l'IPC moyenne est de 34,99 ng/mL contre 1,91ng/mL pour la valeur moyenne de l'intercept. Ainsi l'équation 8 (paragraphe 2.6.3 détermination du temps de retrait) issue de la méthode Toutain-Lassourd n'est pas applicable.

Ainsi nous avons choisi d'exclure toutes les concentrations inférieures strictement à 1ng/mL pour déterminer les pentes d'élimination et temps de demi-vies (HL\*) autour des valeurs d'IPC. Cette méthode a été appliquée pour toutes les molécules dans le plasma et dans les urines.

Le tableau 18 récapitule les paramètres nécessaires aux calculs des IPC et des temps de retrait de la sulfadoxine, tandis que le tableau 19 présente les valeurs de ces deux paramètres calculés pour chacun des chevaux.

*Tableau 18: Paramètres nécessaires aux calculs des EPC, IPC et temps de retrait de la sulfadoxine, pour chacun des chevaux de l'étude. (Cl :Clairance, HL : temps de demi vie) (\*paramètres calculés après suppression des concentrations en sulfadoxine <1ng/mL; \*\*La dose de sulfadoxine correspond à une dose pour 24h)*

<b>Chevaux</b>	<b>Dose (mg)**</b>	<b>Cl plasmatique (ml/h)</b>	<b>HL* (h)</b>	<b>Intercept* (mg/mL)</b>
<b>Nobel</b>	6798,3	18833,50	4,67	70323,42
<b>Reve</b>	7400,36	19650,20	4,70	85644,60
<b>Quashmir</b>	5400,86	10768,58	6,46	87176,61
<b>Pitou</b>	6800,22	16839,38	5,20	83195,53
<b>Diedo</b>	7000,02	17704,93	5,04	91516,63
<b>Phenix</b>	6597,72	12693,21	6,46	86936,07
<b>Keprish</b>	7498,4	19079,48	5,04	91012,28
<b>Leridano</b>	6398,4	15697,72	5,20	93196,59

Tableau 19: Résultats des paramètres calculés: EPC, IPC et WT de la sulfadoxine dans le plasma pour chacun des chevaux de l'étude

Paramètre	Clairance plasmatique (mL/24h)	EPC (ng/mL)	IPC (ng/mL)	WT (h) avec EPC calculé	WT (h) avec EPC théorique
<i>Formule</i>	$Cl(mL/h) \times 24h$	Dose/Cl	EPC/500	$1,44 \times HL \times \log(\text{intercept}/IPC)$	
<i>Nobel</i>	452004,06	15040,35	30,08	50,09	73,00
<i>Reve</i>	471604,88	15691,86	31,38	50,67	74,00
<i>Quashmir</i>	258445,89	20897,45	41,79	67,06	101,80
<i>Pitou</i>	404145,02	16826,19	33,65	55,49	81,85
<i>Diedo</i>	424918,27	16473,80	32,95	54,15	79,50
<i>Phenix</i>	304637,08	21657,64	43,32	66,73	101,81
<i>Keprash</i>	457907,52	16375,36	32,75	54,22	79,55
<i>Leridano</i>	376745,31	16983,36	33,97	55,78	82,20

L'EPC (Effective Plasma Concentration) de la sulfadoxine est calculée à partir de la dose administrée pour chacun des chevaux et de la Clairance plasmatique que nous avons pu déterminés via le logiciel utilisé (Pkanalix®). Sa valeur moyenne pour les chevaux de l'étude est de 17493,25 ng/mL (soit 17,49 µg/mL). La plus petite CMI du sulfaméthoxazole seul d'après la base de données utilisée (EUCAST database) est la CMI d'une souche de *Streptococcus agalactiae* et vaut 0,5 µg/mL. Ainsi l'EPC calculée est environ 35 fois inférieure à l'EPC théorique.

Après application du facteur de sécurité (SF) d'une valeur de 500, nous obtenons l'IPC pour chacun des chevaux. La valeur moyenne de l'IPC déterminée à partir de l'EPC calculée est de 34,99ng/mL. L'IPC calculée à partir de l'EPC théorique est de 1 ng/mL.

De la même manière que pour les temps de détection, le temps de retrait conservé est le plus long de manière à inclure un maximum de chevaux. Ainsi le temps de retrait pour la sulfadoxine est de 67h avec l'EPC calculé contre 102h (environ 4jours) avec l'EPC théorique. C'est donc la valeur issu l'EPC théorique qui serait retenue.

Le tableau 20 récapitule les paramètres nécessaires aux calculs des IPC et des temps de retrait du triméthoprime. Le tableau 21, quant à lui, présente les valeurs de ces deux paramètres calculés pour chacun des chevaux.

Tableau 20: Paramètres nécessaires aux calculs des EPC, IPC et temps de retrait de la triméthoprime, pour chacun des chevaux de l'étude (\*paramètres calculés après suppression des concentrations en triméthoprime < 1ng/mL ; \*\* La dose de triméthoprime correspond à une dose pour 24h)

<b>Chevaux</b>	<b>Dose (mg)**</b>	<b>Cl plasmatique (mL/h)</b>	<b>HL * (h)</b>	<b>Intercept* (mg/mL)</b>
<b>Nobel</b>	1361,70	504280,79	1,66	7,23
<b>Reve</b>	1478,96	295778,81	3,53	2,56
<b>Quashmir</b>	1078,58	260133,06	3,73	1,14
<b>Pitou</b>	1362,10	263194,58	3,47	7,68
<b>Diedo</b>	1398,96	502045,30	1,81	5,61
<b>Phenix</b>	1318,56	424153,82	2,64	2,01
<b>Keprash</b>	1500,80	599107,73	2,28	0,94
<b>Leridano</b>	1281,60	399950,49	1,86	9,62

Tableau 21: Résultats des paramètres calculés: EPC, IPC et WT du triméthoprime dans le plasma pour chacun des chevaux de l'étude

<i>Paramètre</i>	<i>Clairance plasmatique (mL/24h)</i>	<i>EPC (ng/mL)</i>	<i>IPC (ng/mL)</i>	<i>WT (h) avec EPC calculé</i>	<i>WT (h) avec EPC théorique</i>
<i>Obtention</i>	Cl(mL/h)x24h	Dose/cl	EPC/500	1,44xHLxlog(intercept/IPC)	
<i>Nobel</i>	12102738,91	112,51	0,23	19,98	29,62
<i>Reve</i>	7098691,53	208,34	0,42	37,03	60,65
<i>Quashmir</i>	6243193,52	172,76	0,35	38,20	62,12
<i>Pitou</i>	6316669,92	215,64	0,43	38,64	62,05
<i>Diedo</i>	12049087,18	116,11	0,23	21,40	31,99
<i>Phenix</i>	10179691,79	129,53	0,26	29,12	44,99
<i>Keprash</i>	14378585,46	104,38	0,21	24,77	37,76
<i>Leridano</i>	9598811,73	133,52	0,27	22,23	33,47

La détermination de l'EPC et de l'IPC du triméthoprime suit le même procédé que pour la sulfadoxine.

L'EPC moyenne pour les chevaux de l'étude a ainsi été déterminé à 149,10ng/mL (soit 0,149 µg/mL). La plus petite CMI du triméthoprime seul d'après la base de données utilisée (EUCAST database) est celle d'une souche de *Haemophilus influenzae* : 0,002 µg/mL. L'EPC calculée est donc du même ordre de grandeur que l'EPC théorique.

L'IPC moyenne déterminée à partir de l'application de SF à l'EPC calculée est de 0,30 ng/mL contre 0,004 ng/mL pour l'EPC théorique.

Ainsi le temps de retrait pour le triméthoprime est de 38,6h avec l'EPC calculé contre 62,1h avec l'EPC théorique. C'est donc la valeur issue l'EPC théorique qui serait retenue.

### **3.5 Évolution du ratio triméthoprime/sulfadoxine**

Le triméthoprime et les sulfamides se potentialisent car ils agissent sur deux étapes successives du métabolisme des folates. Leur association est donc synergique. Or cette synergie évolue en fonction du ratio des deux agents antibactériens. In vitro, on peut observer une synergie pour des ratios TMP/SDX de 1/1 à 1/40, cependant le ratio optimal in vitro qui assure la plus grande synergie est de 1/19 (Foltzer, Reese 1987).

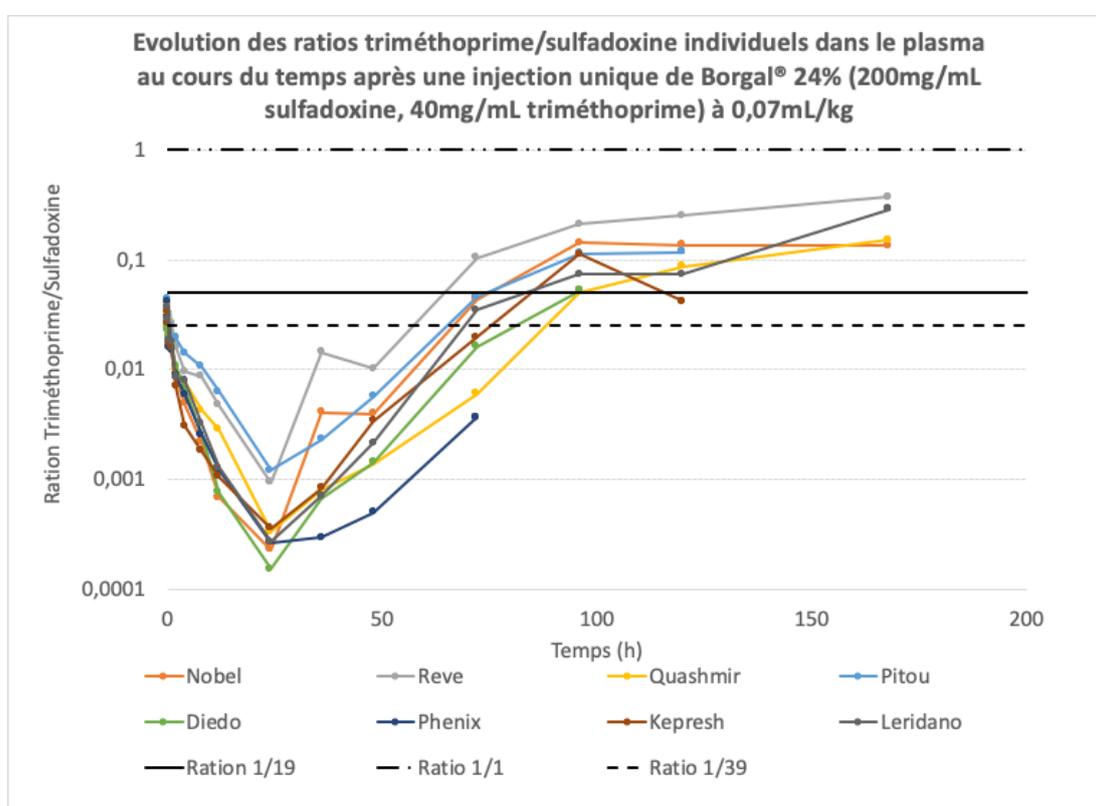
La solution injectable administrée aux chevaux de l'étude est le Borgal 24% ND. Elle contient du triméthoprime à 40 mg/mL et de la sulfadoxine à 200 mg/mL. Ainsi le ratio triméthoprime/sulfadoxine dans la solution est de 1/5, soit 0,2. Comme évoqué dans le paragraphe 1.5 (*Utilisation clinique*), les spécialités de médecine humaine administrables par voie orale, associant triméthoprime et sulfamides, sont conçues avec un ratio de dose triméthoprime/sulfamide égale à 1/5 afin d'obtenir un rapport de 1/19 dans la circulation sanguine.

En médecine vétérinaire, toutes les spécialités sont conçues avec un ratio de dose de 1/5 entre le triméthoprime et le sulfamide, quel que soit la voie d'administration. Or on pourrait s'attendre à ce que le ratio ne soit pas le même entre une spécialité per os et une spécialité injectable ou pour différents sulfamides avec des propriétés pharmacocinétiques très différentes.

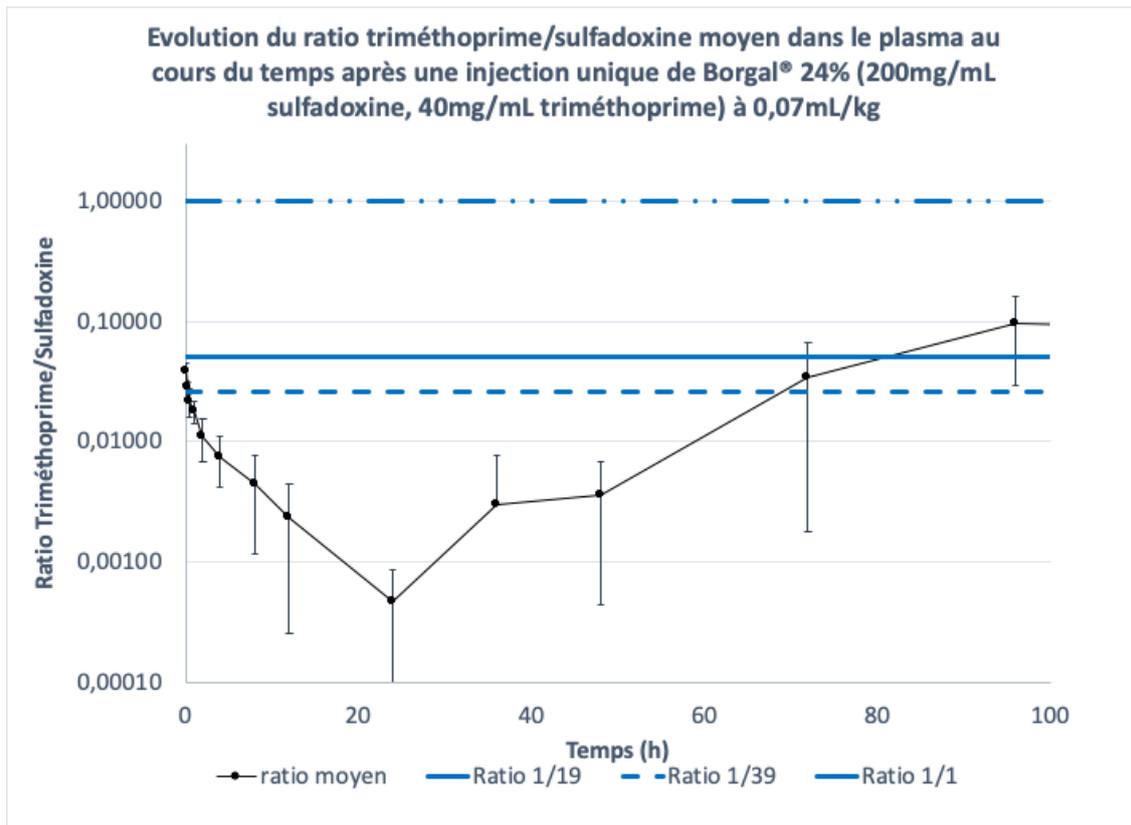
Etant données les différences de vitesse d'élimination mises en évidence précédemment, nous nous sommes donc intéressés à l'évolution du ratio TMP/SDX après injection, dans le plasma et dans les urines.

### 3.5.1 Evolution du ratio triméthoprime/sulfadoxine dans le plasma après une injection unique

Les graphiques ci-dessous représentent l'évolution du ratio triméthoprime /sulfadoxine individuel (graphique 32) et moyen (graphique 33) dans le plasma au cours du temps par rapport ratio assurant une synergie in vitro.



Graphique 32: Evolution du ratio TMP/SDX individuel dans le plasma au cours du temps après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (200mg/mL sulfadoxine, 40mg/mL triméthoprime) à 0,07mL/kg



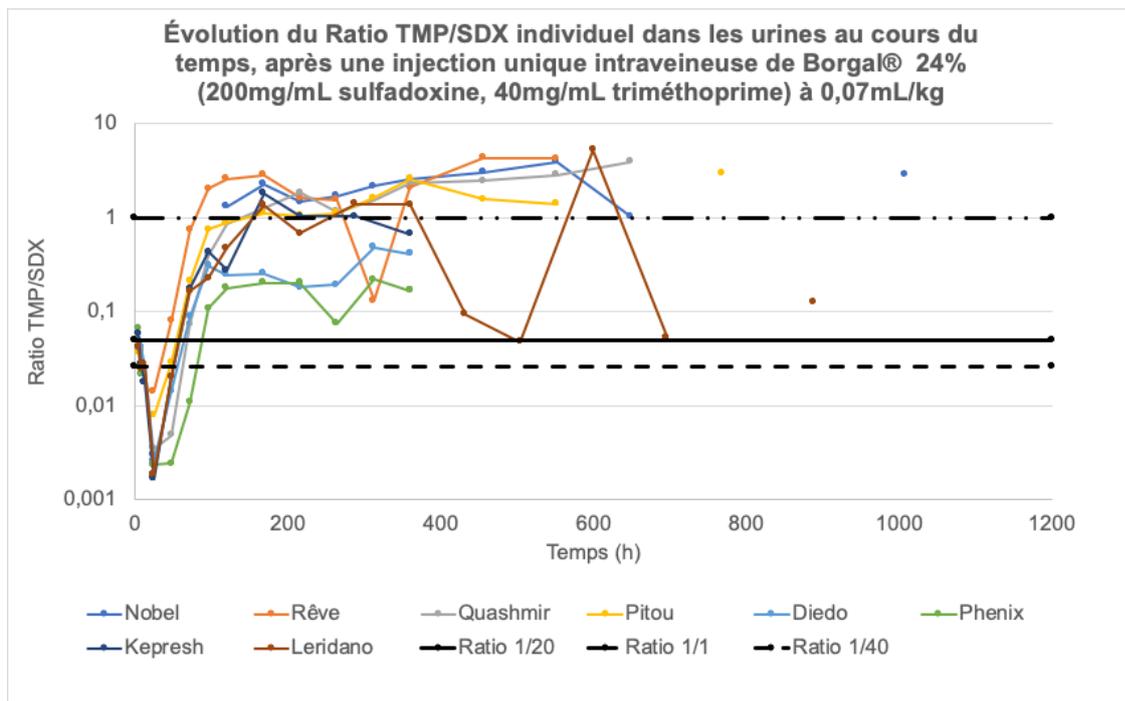
Graphique 33: Évolution du Ratio TMP/SDX moyen dans le plasma au cours du temps, après une injection unique de Borgal® 24% (200mg/mL sulfadoxine, 40mg/mL triméthoprimé) à 0,07mL/kg

Les 8 chevaux de l'étude atteignent un ratio proche de 1/19 au premier prélèvement (avec des valeurs entre 0,02 et 0,04) mais le ratio diminue rapidement en dessous du ratio 1/39, sur un intervalle de 15 min à 2h après l'injection selon l'individu. Ainsi on constate que le ratio qui assure une synergie maximale est atteint moins de 5 minutes dans les 24 premières heures après l'injection et le ratio TMP/SDX reste synergique en moyenne 15 minutes après l'injection.

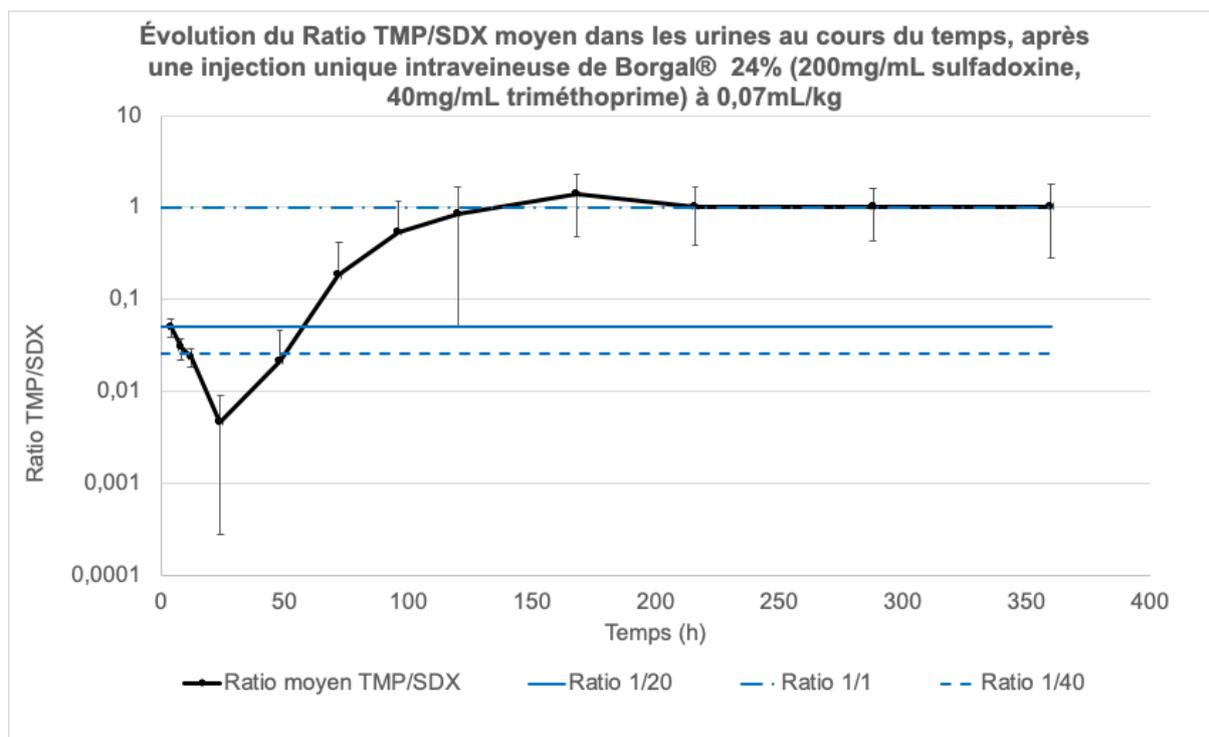
Le ratio réaugmente à partir du 4<sup>e</sup> prélèvement (24h après l'injection) et revient dans l'intervalle favorable à la synergie à 48h et 96h pour 7 chevaux. Or, 48h après l'injection, les concentrations de la sulfadoxine et du triméthoprimé sont relativement faibles (118ng/mL en moyenne à 48h post-injection pour la sulfadoxine et 0,26ng/mL en moyenne à 48h post-injection pour le triméthoprimé).

### 3.5.2 Evolution du ratio triméthoprime/sulfadoxine dans les urines après une injection unique

Les graphiques ci-dessous représentent les ratio triméthoprime/sulfadoxine individuel (graphique 34) et moyen (graphique 35) dans les urines au cours du temps par rapport au ratio assurant une synergie in vitro.



Graphique 34: Évolution du Ratio TMP/SDX individuel dans les urines au cours du temps, après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (200mg/mL sulfadoxine, 40mg/mL triméthoprime) à 0,07mL/kg



Graphique 35: Évolution du Ratio TMP/SDX moyen dans les urines au cours du temps, après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (200mg/mL sulfadoxine, 40mg/mL triméthoprimine) à 0,07mL/kg

Le ratio TMP/SDX est proche du ratio optimal de 1/19 (entre 0,038 et 0,067) lors du premier prélèvement, soit 4h après l'injection et le reste jusqu'à 8h après l'injection pour l'un des chevaux de l'étude. On constate ensuite une diminution du ratio TMP/SDX, avec des valeurs qui deviennent inférieures à 0,026 (1/39) entre 12 et 24h après l'injection selon les chevaux.

On observe la même tendance que dans le plasma : le ratio réaugmente à partir du 4<sup>e</sup> prélèvement (24h après l'injection) et se situe à nouveau dans l'intervalle synergique entre 48h et 96h après l'injection (entre 48h et 72h en moyenne). Le ratio optimal est de nouveau atteint lui aussi entre 48 et 96h (en moyenne entre 72 et 96h).

Les concentrations de la sulfadoxine et du triméthoprimine à 48h post-injection sont respectivement de 13 663 ng/mL et 38 ng/mL, elles sont plus élevées que dans le sang mais restent à comparer avec les CMI des bactéries impliquées dans les infections de l'appareil urinaire.

### **3.6 Evolution des concentrations du triméthoprime et de la sulfadoxine par rapport aux CMI des principales bactéries impliquées dans les infections chez le cheval**

Il y a une prise de conscience ces dernières années sur l'utilisation des antibiotiques, notamment avec l'augmentation des résistances aux antibiotiques et l'émergence de bactéries multi-résistantes. Ainsi il est primordial d'utiliser un antibiotique au spectre adapté à l'infection à traiter et que la dose soit efficace.

L'association Triméthoprime-Sulfadoxine est temps-dépendante, autrement dit l'efficacité antimicrobienne de l'association dépend du temps pendant lequel la concentration de l'association d'antibiotiques est au moins supérieure à la concentration minimale inhibitrice (CMI) sur le site de l'infection.

L'association triméthoprime/sulfamide est indiquée dans le traitement d'infections des tissus cutanés, de l'appareil respiratoire, de l'appareil reproducteur mais aussi dans le traitement de certaines infections des liquides biologiques (urines, liquide cérébro-spinal). Il est difficile de mesurer la concentration tissulaire en médicament (les méthodes utilisées ne prennent pas en compte qu'un tissu est composé de plusieurs compartiments : extracellulaire, interstitiel), c'est pourquoi dans cette étude nous utilisons les valeurs plasmatiques pour estimer les concentrations tissulaires en antibiotiques (Mouton et al. 2007). Pour estimer l'efficacité des antibiotiques étudiés lors d'infection de l'appareil urinaire, nous avons étudié leur concentration urinaire par rapport aux CMI des bactéries rencontrées lors de ces infections.

Les modélisations pharmacocinétiques et pharmacodynamiques sont les premières étapes d'une approche semi-mécanistique pour optimiser les dosages des antibiotiques à action systémique (Toutain et al. 2021). Un indice utilisé pour les antibiotiques temps dépendants est  $fT > CMI$ , il correspond au temps pendant lequel la concentration en antibiotique libre (c'est-à-dire non lié aux protéines plasmatiques) reste supérieure à sa CMI.

Nous nous sommes donc intéressés à cet indice afin d'étudier l'efficacité de l'association triméthoprime/sulfadoxine contre les principales bactéries impliquées dans les infections chez le cheval (bactéries répertoriées dans le tableau 3), et dont la CMI pour les antibiotiques étudiés est connue.

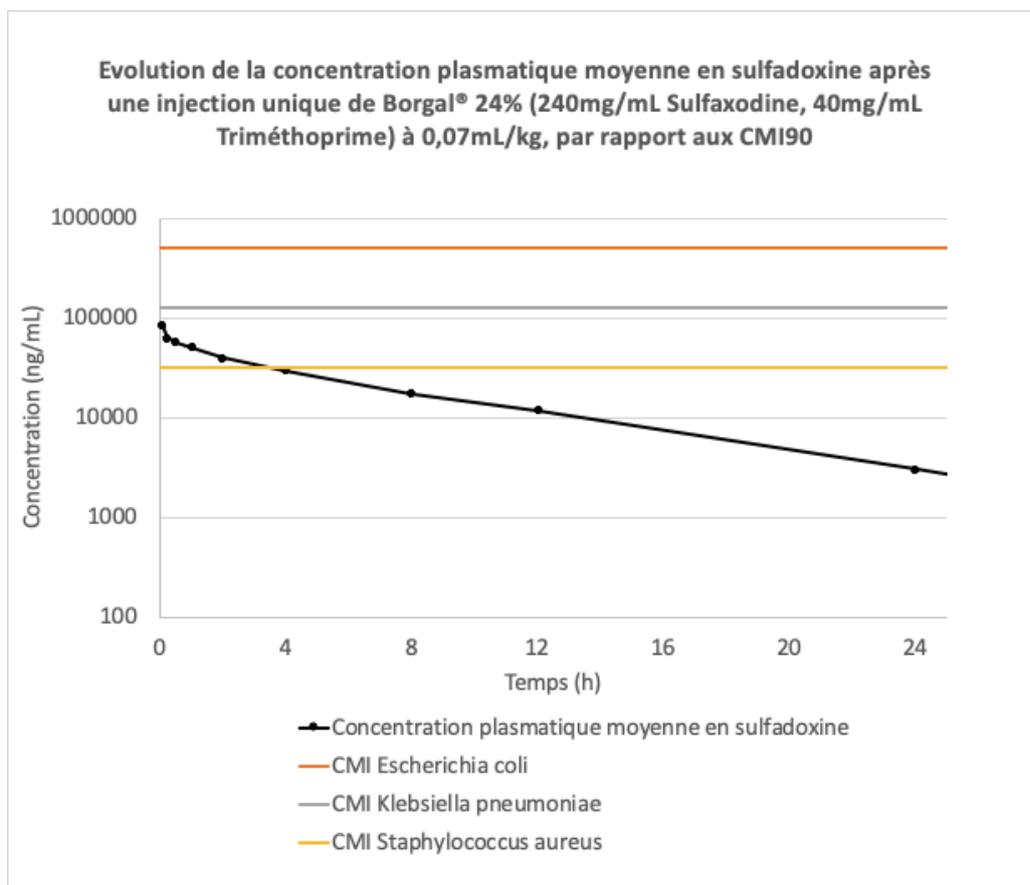
Les CMI utilisées dans notre étude ont été calculées et correspondent aux CMI<sub>90</sub> disponibles sur la base de données de EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) (ESCMID Executive Office 2024). La détermination des CMI présentes dans cette base de données suit un protocole standardisé pour une meilleur reproductibilité et fiabilité des résultats (Toutain et al. 2017), c'est pourquoi nous avons utilisées valeurs de CMI dans notre étude.

Les CMI pour l'association du triméthoprimé avec un sulfamide sont mesurées pour un ratio Triméthoprimé/sulfaméthoxazole de 1/19. Cependant nous avons mis en évidence que ce ratio n'est pas constant dans le temps et que l'association ne serait synergique dans le sang que pendant une durée de 15 minutes après son administration jusqu'à 8h après l'injection, dans les urines. Nous avons donc étudié l'évolution des concentrations en triméthoprimé et sulfadoxine seuls dans ces deux fluides par rapport à leur CMI respectives, afin de vérifier si, même lorsque le ratio n'est pas optimal, leurs concentrations plasmatiques et urinaires restent suffisantes pour assurer une action antibactérienne efficace.

Il n'y a aucune CMI mesurée pour la sulfadoxine sur la base de données de EUCAST, en revanche il existe des données pour le sulfaméthoxazole, autre sulfamide souvent utilisé en association avec le triméthoprimé. La sulfadoxine et le sulfaméthoxazole étant deux sulfamides de structure assez proche, nous avons utilisé les CMI du sulfaméthoxazole pour estimer l'efficacité de l'association triméthoprimé-sulfadoxine sur les principales bactéries impliquées dans les infections chez le cheval.

### **3.6.1 Evolution de la concentration plasmatique de la sulfadoxine seule, par rapport aux CMI des principales bactéries impliquées dans les infections chez les chevaux**

Le graphique ci-dessous représente l'évolution de la concentration plasmatique en sulfadoxine au cours du temps par rapport aux CMI<sub>90</sub> des principales bactéries impliquées dans les infections chez le cheval (cf tableau 3) et dont les CMI<sub>90</sub> étaient disponibles sur la base de données de EUCAST.



Graphique 36: Evolution de la concentration plasmatique moyenne en sulfadoxine après une injection unique de Borgal® 24% (240mg/mL Sulfadoxine, 40mg/mL Triméthoprime) à 0,07mL/kg, par rapport aux CMI90 des principales bactéries impliquées dans les infections chez le

Tableau 22: Détermination des  $fT > CMI$  pour la Sulfadoxine dans le plasma

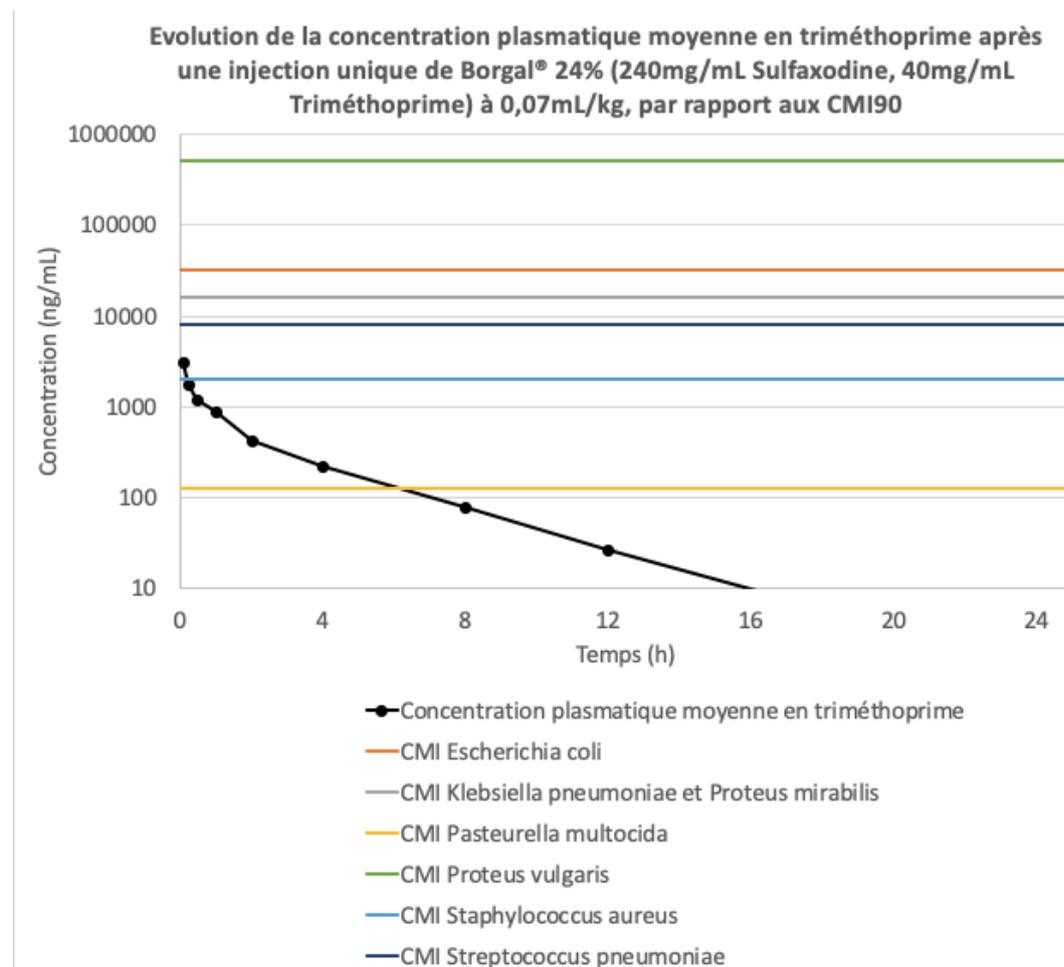
	Sulfadoxine			
	CMI <sub>90</sub> (µg/mL)	t <sub>min</sub> > CMI (h)	t <sub>max</sub> > CMI (h)	fT > CMI (h)
Escherichia coli	512	-	-	0
Klebsiella pneumoniae	128	-	-	0
Staphylococcus aureus	32	0,08	2	1,92

On constate que la concentration plasmatique moyenne en sulfadoxine est bien inférieure à la CMI pour *Escherichia coli*. En effet, la concentration plasmatique moyenne maximale en sulfadoxine est de 83 587,5 ng/mL contre 512 000 ng/mL pour la CMI<sub>90</sub> de *Escherichia coli*. D'autre part, elle ne reste que moins de 5 minutes au-dessus de la CMI de

*Klebsiella pneumoniae*. En revanche, la concentration plasmatique moyenne en sulfadoxine reste supérieure à la CMI pour *Staphylococcus aureus* environ 2h après l'injection.

### 3.6.2 Évolution de la concentration plasmatique du triméthoprime seul, par rapport aux CMI des principales bactéries impliquées dans les infections chez les chevaux

Le graphique ci-dessous représente l'évolution de la concentration plasmatique en triméthoprime au cours du temps par rapport aux CMI<sub>90</sub> des principales bactéries impliquées dans les infections chez le cheval (cf tableau 3) et dont les CMI<sub>90</sub> étaient disponibles sur la base de données de EUCAST.



Graphique 37: Evolution de la concentration plasmatique moyenne en triméthoprime après une injection unique de Borgal® 24% (240mg/mL Sulfadoxine, 40mg/mL Triméthoprime) à 0,07mL/kg, par rapport aux CMI90 des principales bactéries impliquées dans les infections chez le cheval

Tableau 23: Détermination des  $fT > CMI$  pour le Triméthoprimé dans le plasma

	Triméthoprimé			
	CMI <sub>90</sub> (µg/mL)	t <sub>min</sub> > CMI (h)	t <sub>max</sub> > CMI (h)	Δt >CMI (h)
<i>Escherichia coli</i>	32	-	-	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16	-	-	0
<i>Proteus mirabilis</i>	0,125	-	-	0
<i>Proteus vulgaris</i>	16	-	-	0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	512	-	-	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	0,08	0,08	0
<i>Pasteurella multocida</i>	8	0,08	4	3,92

On constate que la concentration plasmatique moyenne en triméthoprimé n'est jamais supérieure à la CMI pour cinq des sept bactéries étudiées ici (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* et *Streptococcus pneumoniae*). Elle est supérieure à la CMI de *Staphylococcus aureus* uniquement au premier prélèvement à 5 min post injection. Cependant, elle reste supérieure à la CMI de *Pasteurella* jusqu'à 4h après l'injection.

Il faudrait pouvoir comparer la concentration plasmatique moyenne en sulfadoxine seul et en triméthoprimé seul à un plus grand nombre de CMI et notamment certaines bactéries d'intérêt chez le cheval comme *Streptococcus equi equi* et *Streptococcus equi zooepidemicus*. afin de pouvoir conclure, cependant on remarque que sur cet échantillon de bactéries les concentrations plasmatiques moyennes en sulfadoxine et en triméthoprimé seuls ne semblent pas suffisantes.

En effet, même si les concentrations plasmatiques moyennes en sulfadoxine et en triméthoprimé seuls restent supérieures à certaines CMI, les  $fT$  restent courts (2h et 4h). Or, le RCP (Résumé des caractéristiques du produit) de la formule utilisée préconise une injection par jour aux posologies administrées dans notre étude (2,7mg/kg de triméthoprimé et 13,4mg/kg de sulfadoxine) pendant 5 jours.

Ainsi l'efficacité clinique de l'association triméthoprimé-sulfadoxine dépend de l'intensité de la synergie entre ces deux molécules à des ratios différents de 1/19.

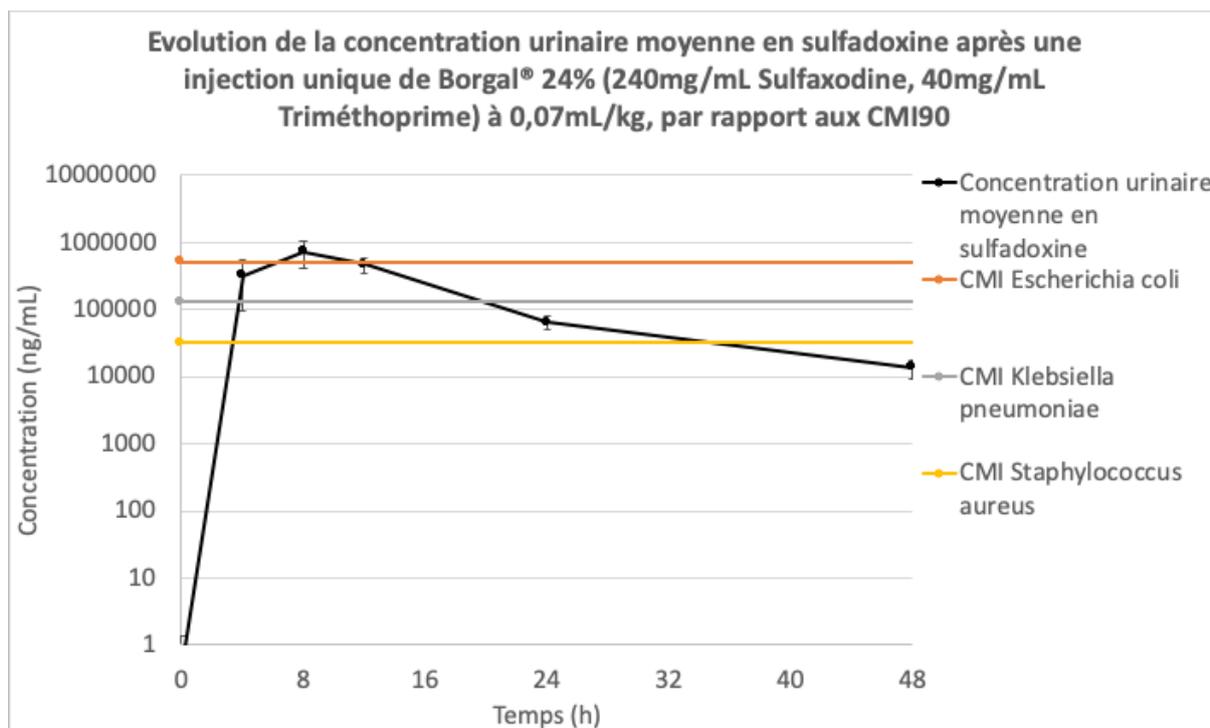
### **3.6.3 Évolution de la concentration urinaire de l'association triméthoprime-sulfadoxine, par rapport aux CMI des principales bactéries impliquées dans les infections chez les chevaux**

Les CMI des bactéries étant mesurée pour un ratio entre le triméthoprime et le sulfaméthoxazole égale à 1/19, nous ne pouvons commenter l'évolution des concentrations en triméthoprime et sulfadoxine ensemble que lorsque ce ratio est observé entre ces derniers, autrement dit uniquement 4h post injection.

Or, on peut observer que 4h après l'injection la concentration urinaire moyenne en triméthoprime est de 20250 ng/mL et la concentration urinaire en sulfadoxine est de 316000ng/mL.

### **3.6.4 Évolution de la concentration urinaire de la sulfadoxine seule, par rapport aux CMI des principales bactéries impliquées dans les infections chez les chevaux**

Le graphique ci-dessous représente l'évolution de la concentration urinaire en sulfadoxine au cours du temps par rapport aux CMI<sub>90</sub> moyennes des principales bactéries impliquées dans les infections chez le cheval (cf tableau 3) et dont les CMI<sub>90</sub> étaient disponibles sur la base de données de EUCAST.



Graphique 38: Evolution de la concentration urinaire moyenne en sulfadoxine après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (240mg/mL Sulfadoxine, 40mg/mL Triméthopime) à 0,07mL/kg par rapport aux CMI des principales bactéries impliquées dans les infections chez le cheval

Tableau 24: Détermination des  $fT > CMI$  pour la Sulfadoxine dans les urines

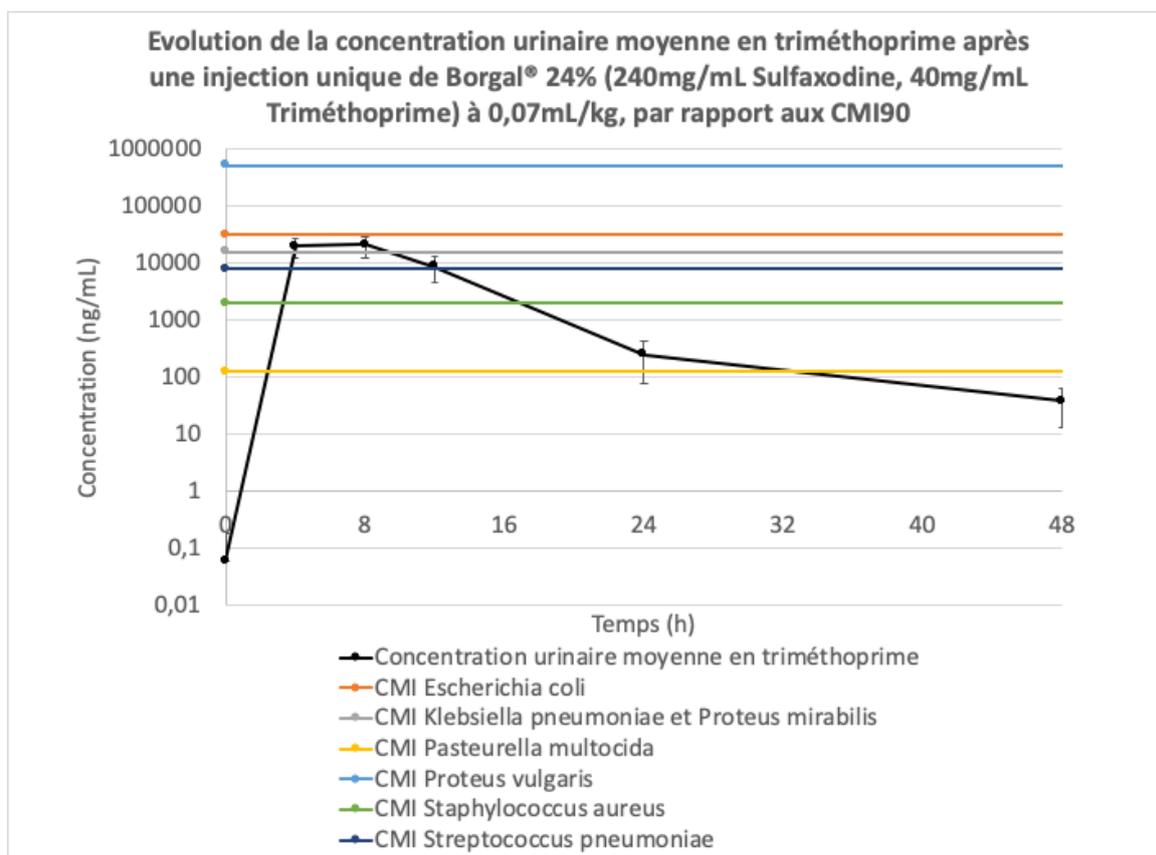
	Sulfadoxine			
	CMI <sub>90</sub> ( $\mu$ g/mL)	T <sub>min</sub> > CMI (h)	T <sub>max</sub> > CMI (h)	fT > CMI (h)
<i>Escherichia coli</i>	128,808	8	8	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	81,078	4	12	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	22,829	4	24	20

A la différence du plasma, la concentration urinaire en sulfadoxine est supérieure à la CMI de *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* étudiées au premier prélèvement à 4h après injection et le reste jusqu'à 12h et 24h respectivement. Cependant elle est supérieure à la CMI d'*Escherichia coli* uniquement au prélèvement à 8h post injection.

A partir de 8h après l'injection, le ratio entre TMP et SDX n'assure plus une synergie entre les deux antibiotiques. Ici on constate que la concentration en sulfadoxine après 12h n'est plus efficace contre *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Entre 12h et 24h la sulfadoxine reste cependant efficace contre *Staphylococcus aureus*.

### 3.6.5 Évolution de la concentration urinaire du triméthoprim seul, par rapport aux CMI des principales bactéries impliquées dans les infections chez les chevaux

Le graphique ci-dessous représente l'évolution de la concentration urinaire en triméthoprim au cours du temps par rapport aux CMI90 moyennes des principales bactéries impliquées dans les infections chez le cheval (cf tableau 3) et dont les CMI90 étaient disponibles sur la base de données de EUCAST.



Graphique 39: Evolution de la concentration urinaire moyenne en triméthoprim après une injection unique intraveineuse de Borgal® 24% (240mg/mL Sulfaxodine, 40mg/mL Triméthoprim) à 0,07mL/kg par rapport aux CMI des principales bactéries impliquées dans les infections chez le cheval

Tableau 25: Détermination des  $fT > CMI$  pour le Triméthoprimé dans les urines

	Triméthoprimé			
	CMI <sub>90</sub> (µg/mL)	Tmin > CMI (h)	Tmax > CMI (h)	fT > CMI (h)
<i>Proteus vulagris</i>	512	-	-	0
<i>Escherichia coli</i>	32	-	-	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16	4	8	4
<i>Proteus mirabilis</i>	16	4	8	4
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	8	4	12	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	4	12	8
<i>Pasteurella multocida</i>	0,125	4	24	20

On observe que la concentration du triméthoprimé dans les urines ne dépasse jamais les CMI<sub>90</sub> *Proteus vulgaris* et *Escherichia coli*.

Elle reste supérieure aux CMI<sub>90</sub> de *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus mirabilis* de 4 à 8 après l'injection et de 4h à 12h après l'injection pour *Streptococcus pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*.

*Pasteurella multocida* est la seule bactérie pour laquelle la concentration en TMP reste supérieure à la CMI de 4h à 24h après l'injection.

A partir de 12h après l'injection, le ratio entre TMP et SDX n'assure plus une synergie entre les deux antibiotiques. Le TMP seul n'est donc efficace que pour *Pasteurella multocida* entre 12h et 24h après l'injection.

# DISCUSSION

Les objectifs de cette étude étaient d'une part d'étudier la cinétique d'élimination du triméthoprimé et de la sulfadoxine après une injection unique intraveineuse à 15 mg/kg afin de déterminer des temps de détection ; et d'autre part d'étudier l'évolution du ratio entre les deux antibiotiques et leur concentration par rapport au CMI dans le but de discuter de leur efficacité.

Ainsi nous avons montré que le temps de détection du triméthoprimé est de 216 h (9 jours) pour une LOQ de 0,05 ng/mL dans le sang et de 984 h (41 jours) pour une LOQ de 1 ng/mL dans l'urine. Pour la sulfadoxine, le temps de détection dans le plasma est d'au moins 524 h (22 jours) pour une LOQ de 0,05 ng/mL et dans l'urine il est de 984 h (41 jours) pour une LOQ de 1 ng/mL.

Le triméthoprimé et les sulfamides étaient jusqu'alors exclus de la liste des substances prohibées. Leur statut pourrait se voir changer notamment pour la EHSLC. La FEI en revanche ne les considérera pas comme substances contrôlées en 2023 et 2024 (FEI 2022b; 2023).

## **1 Protocole**

### **1.1 Les prélèvements**

L'étude pilote a mis en évidence que le triméthoprimé était détecté dans les urines au dernier prélèvement à 1200 h (50 jours) post injection et le desméthyltriméthoprimé jusqu'à l'avant-dernier prélèvement à 1080 h post-injection (45 jours). Le protocole de prélèvement a donc été adapté pour l'étude principale avec des heures de prélèvements adaptées afin d'étudier la cinétique d'élimination jusqu'à 1680 h post-injection (70 jours).

Les prélèvements urinaires lors de l'étude ont été effectués par miction spontanée. Par conséquent, il peut y avoir une différence entre l'heure de prélèvement d'urine prévue dans le cadre du protocole et l'heure réelle du prélèvement. Ces écarts allaient de 0 à 9h dans notre étude.

Pour un meilleur respect des temps de prélèvements d'urine et donc une meilleure exactitude de la cinétique d'élimination urinaire, la méthode optimale de récolte des

échantillons aurait été via sonde urinaire posée le premier jour après l'injection. Cependant, pour cette opération, la tranquillisation est souvent nécessaire et aurait pu impacter nos résultats. De plus, une sonde urinaire laissée à demeure est un facteur de risque important de cystite bactérienne. D'autre part, des prélèvements à la sonde présentent plus de risque pour le manipulateur puisque la manipulation de la sonde peut être inconfortable pour le cheval. Finalement, on remarque que les écarts entre le temps prévu et le temps réel de prélèvement ne dépassaient pas 2 % du temps prévu après les 48 h suivant l'injection.

En pratique, lors des contrôles antidopage sont réalisés en sortie d'épreuve, on prélève les échantillons sur une miction unique d'urine. Les chevaux peuvent présenter alors un état plus ou moins important de déshydratation lié à l'effort qu'ils ont fourni. Or l'état d'hydratation a un impact sur le débit de filtration glomérulaire et donc sur les concentrations de potentielles substances présentes.

## **1.2 Les chevaux de l'étude**

Nous avons souligné l'impact de l'activité physique, il est important de noter que l'activité d'un cheval de loisir est bien moins intense que celle d'un cheval de course ou de concours de haut niveau.

Ainsi les chevaux de l'étude ne sont en ce sens pas représentatifs de la future population testée lors des contrôles. Cependant, les chevaux de loisir sont des chevaux qui sont manipulés quotidiennement et souvent sélectionnés pour leur docilité et leur gentillesse à l'égard de l'Homme. Ainsi ils assurent une certaine sécurité pour l'étude.

Aussi, toujours dans un souci de sécurité du manipulateur, mais aussi de bien-être animal, l'étude a été réalisée uniquement sur des chevaux hongres. Or en compétition, les chevaux partants peuvent être des entiers, des juments ou des hongres. À titre d'exemple, parmi les cent premiers au classement France galop 40 % sont des juments, 36 % des étalons et 20 % des chevaux hongres en 2023 (France Galop 2023b).

D'autre part, les hormones sexuelles semblent jouer un rôle dans le métabolisme et ainsi avoir des conséquences sur l'intensité et la durée d'action de certaines molécules. Chez le rat, une étude a mis en évidence une différence des effets pharmacologiques du pentobarbital et d'autres agents anesthésiques d'induction de la narcose. L'action anabolique des hormones

sexuelles mâles semble avoir un rôle dans l'augmentation des activités enzymatiques (Kato, Chiesara, Frontino 1962). Ainsi, l'étude étant menée sur des chevaux hongres, les temps de détection et les paramètres pharmacocinétiques issues de l'étude pourraient être surestimés pour les chevaux entiers. Cependant, cette surestimation n'est pas gênante dans la détermination des temps de détection puisqu'on cherche un temps pour lequel, parmi tous les chevaux, aucun animal ne ressort positif.

Les chevaux de l'étude avaient un âge compris en 10 et 16 ans. Cette tranche d'âge est représentative des chevaux de sports de haut niveau. En effet, dans les sports de haut niveau, un certain niveau d'expérience est nécessaire chez la monture afin de maîtriser le niveau technique demandé sur ces épreuves. En endurance dans les courses de niveau international, l'âge minimum requis pour les chevaux est de 8 ans (FFE 2023). En saut d'obstacle et en dressage, la carrière des chevaux de très haut niveau commence vers 8-9ans et voit souvent son apogée entre 10 et 12 ans. En revanche dans les courses les chevaux sont bien plus jeunes. En effet, les chevaux de courses peuvent concourir dès l'âge de 2 ans et rarement après 10 ans (Institut français du cheval et de l'équitation 2019).

### **1.3 L'injection de l'antibiotique/suivi du protocole**

Le protocole thérapeutique suivi dans notre étude est celui du RCP du produit utilisé. Ainsi, les chevaux se sont vu administrer une dose de 13,4 mg/kg de sulfadoxine et 2,7 mg/kg de triméthoprimine en injection lente par voie intraveineuse. Cependant, nous n'avons réalisé qu'une seule injection là où le RCP préconise une injection de 15mg/kg par jour pendant 5 jours. Ainsi avec une seule injection, nous avons réalisé un protocole incomplet par rapport à la RCP. Le risque est d'avoir négligé une potentielle accumulation des molécules au cours du temps.

L'antibiorésistance est une menace mondiale grandissante, il est alors primordial d'adopter une utilisation raisonnée des antibiotiques. La décision d'un traitement antibiotique doit être animée par l'évaluation du patient, de son état clinique et des bactéries ciblées (Wilson 2001). La France a d'ailleurs mis en place plusieurs plans successifs (plan ECOANTIBIO 1 de 2012-2016 et plan ECOANTIBIO 2 de 2017 à 2021) afin d'apporter un cadre à l'utilisation des antibiotiques et elle poursuit ses actions avec le plan ECOANTIBIO 3 (2023-2028) qui s'étend aux autres antimicrobiens et aux antiparasitaires (Ministère de l'agriculture et de la souveraineté alimentaire 2023). Pour limiter l'exposition de la flore commensale aux antibiotiques et pour

limiter la sélection de bactéries résistantes, nous avons restreint le protocole à une seule administration par cheval.

Une alternative à ce protocole aurait été de mener les suivis de cinétique d'élimination chez des chevaux malades qui nécessitaient un traitement par injection intraveineuse de triméthoprime et sulfadoxine le temps préconisé. Cependant, cette solution soulève plusieurs inconvénients. Cela implique soit de garder les chevaux hospitalisés au moins le temps des prélèvements sanguins puis de les ramener pour les jours de prélèvement d'urine soit d'impliquer d'autres manipulateurs pour les prélèvements lorsque le cheval retourne sur son site d'hébergement. Les maladies apporteraient des variations interindividuelles dès le début de l'étude compte tenu des symptômes présentés par chaque cheval. D'autre part, le traitement d'une maladie ne se limite pas à l'utilisation d'un antibiotique seul, et donc il y aurait de potentielles interactions médicamenteuses en plus.

Une autre solution pour notre étude aurait alors été de réaliser le protocole thérapeutique complet sur des chevaux sains au départ. Cette méthode n'est toujours pas en adéquation avec les principes de réduire l'impact des expérimentations sur les animaux inclus dans les études.

## **2 Cinétique d'élimination**

### **2.1 Pharmacocinétique des molécules étudiées**

Les paramètres pharmacocinétiques déterminés avec les résultats de notre étude sont cohérents avec les données disponibles dans la littérature pour le triméthoprime (Brown, Gronwall, Castro 1988; Peck et al. 2002).

Lors de notre étude, nous avons pu confirmer que la sulfadoxine présente les caractéristiques d'un sulfamide dit « longue action ».

Pour une injection de 12,5 mg/kg de sulfaméthoxazole, la clairance plasmatique moyenne était de 87,6 mL/kg/h pour une étude réalisée sur 3 chevaux (Peck et al. 2002) et de 78,2 mL/kg/h pour une étude réalisée sur 6 juments (Brown, Gronwall, Castro 1988). Dans notre étude où nous avons injecté 13,4 mg/kg de sulfadoxine, la clairance plasmatique moyenne de la sulfadoxine était de 32,3 mL/kg/h.

La sulfadoxine semble donc être éliminée du plasma moins rapidement que le sulfaméthoxazole.

Nous avons pu observer des discontinuités et des rebonds de la concentration urinaire en sulfadoxine, triméthoprimé et desméthyltriméthoprimé lors de nos suivis.

Ces discontinuités de détection pourraient résulter de contamination par ingestion de substrat de litière souillée par des urines ou des selles d'un cheval traité avec une association triméthoprimé et sulfamide, ou souillée par le cheval de l'étude lui-même. L'augmentation de la concentration urinaire en sulfadoxine à 312 h post-injection pour Reve, ne semble pas en faveur de cette hypothèse, car on n'observe pas d'augmentation de la concentration plasmatique en sulfadoxine en parallèle de celle remarquée dans les urines. Cependant, pour les autres discontinuités, les dosages sanguins ne permettent pas de l'exclure.

L'état d'hydratation des chevaux peut être un facteur impliqué dans les rebonds de la concentration en médicament dans les urines. Car comme nous l'avons souligné précédemment, l'activité physique peut modifier la concentration urinaire en l'augmentant et par conséquent augmenter artificiellement la concentration en xénobiotique dans les urines.

## **2.2 Le métabolisme du triméthoprimé**

Les concentrations plasmatiques maximales atteintes pour le desméthyltriméthoprimé se sont révélées variées selon le cheval avec des valeurs entre 28,6 ng/mL et 89,3 ng/mL. Si on étudie le rapport entre la concentration plasmatique maximale en desméthyltriméthoprimé et celle en triméthoprimé ( $C_{max} \text{ DES} / C_{max} \text{ TMP}$ ) pour chaque cheval, on constate alors que  $C_{max} \text{ DES}$  est entre 1 à 3 % de la valeur de  $C_{max} \text{ TMP}$ . On peut en déduire que soit que le triméthoprimé est très peu métabolisé, ou soit que le desméthyltriméthoprimé est très rapidement excrété. Or la tendance au niveau des concentrations urinaires pour ces deux molécules s'inverse : la concentration maximale moyenne en desméthyltriméthoprimé était environ 18 fois supérieure à la concentration maximale moyenne en triméthoprimé.

Ainsi ces observations suggèrent que le triméthoprimé subit un métabolisme important pour se transformer en son métabolite, le desméthyltriméthoprimé. La concentration plus élevée du métabolite par rapport au médicament d'origine dans les urines suggère que le métabolisme du triméthoprimé est assez actif. En d'autres termes, une grande partie du triméthoprimé semble être métabolisée en desméthyltriméthoprimé avant d'être excrétée dans les urines et il peut être intéressant de rechercher ce métabolite dans la lutte anti-dopage.

### **3 Etude préliminaire sur l'efficacité de l'association sur les bactéries**

#### **3.1 Le ratio TMP/sulfadoxine**

Le protocole thérapeutique du RCP du produit utilisé dans l'étude indique une fréquence d'injection de 24h. Ainsi, l'interprétation des concentrations et du ratio du triméthoprimé et de la sulfadoxine doit se faire sur un intervalle de 24h post-injection.

Nous avons pu constater que le ratio de 1/19 décrit comme synergique entre les deux antibiotiques n'était maintenu dans le plasma que 15 minutes après l'injection, car le ratio triméthoprimé/sulfadoxine diminuait rapidement en dessous de 1/39 et ne revenait dans des valeurs synergiques qu'après 48 h post-injection.

Ainsi nos observations nous amènent à remettre en question la formulation du produit qui est conçu avec un ratio de doses triméthoprimé/sulfadoxine à 1/5 dans l'objectif de viser un ratio idéal de concentrations de 1/19 dans le sang. Le ratio de 1/5 dans la formulation des médicaments d'humaine est discutable en médecine équine. L'absorption orale du triméthoprimé et des sulfamides étant décrite comme élevée, on peut s'attendre à observer les mêmes phénomènes au niveau du ratio entre ces deux antibiotiques pour des formulations per os.

Cependant, le triméthoprimé et la sulfadoxine ont des volumes de distribution élevés (respectivement 55,5 L/kg et 3,5 L/kg d'après l'analyse non compartimentale réalisée dans cette étude). Ainsi, les concentrations sanguines ne traduisent pas forcément la réalité tissulaire et le ratio de concentrations observé dans le sang pourrait être différent du ratio de concentrations tissulaires.

D'autre part, nous avons constaté que, pour le triméthoprimé et la sulfadoxine seuls soit leurs concentrations étaient insuffisantes, soit les  $fT > CMI$  étaient relativement courts. Ainsi, l'efficacité clinique de l'association triméthoprimé-sulfadoxine semble dépendre de l'intensité de la synergie entre ces deux molécules à des ratios différents de 1/19. Il serait donc intéressant d'évaluer la synergie entre le triméthoprimé et les sulfamides pour une plus grande étendue de ratio.

### **3.2 L'évolution des concentrations en triméthoprime et en sulfadoxine par rapport à leur CMI**

Les CMI des associations de triméthoprime et sulfamides sont déterminées pour des ratios triméthoprime/sulfamide de 1/19. Or nous avons vu que le ratio de concentrations triméthoprime/sulfadoxine n'est de 1/19 dans le sang que pendant une durée de 15 minutes après l'injection.

En l'absence de données sur la synergie en dehors de ce ratio de 1/19, nous avons considéré individuellement, le triméthoprime et la sulfadoxine. Les deux antibiotiques ont eu des concentrations inférieures à la plupart des CMI des bactéries étudiées ou supérieures aux CMI qu'un temps relativement court (8h maximum pour le triméthoprime et 4h maximum pour la sulfadoxine).

Ainsi, si l'on considère que seul le ratio 1/19 est synergique, l'association triméthoprime-sulfadoxine ne semble pas être la plus adaptée pour le traitement des infections tissulaires ou des septicémies. En cas d'infections tissulaires par *Pasteurella multocida*, il serait nécessaire d'augmenter la fréquence d'injection à toutes les 8h pour avoir une concentration suffisante en triméthoprime sur le site d'infection. De même, en cas d'infection à *Staphylococcus aureus*, la fréquence d'administration devrait être de toutes les 4h pour avoir une concentration en sulfadoxine suffisante. De tels changements de posologie impliqueraient évidemment une vérification de la tolérance.

Dans les urines en revanche le triméthoprime et la sulfadoxine sont présents dans un ratio synergique jusqu'à 12h après l'injection et leurs concentrations en association est bien supérieures aux CMI sur cet intervalle de temps. Après 12h après l'injection, nous nous sommes intéressés aux concentrations urinaires en triméthoprime et sulfadoxine séparément. Elles ne sont restées supérieures qu'aux CMI de *P. multocida* et *S. aureus*, et ce jusqu'à 24h post-injection. L'association triméthoprime-sulfadoxine semble donc effectivement une bonne option thérapeutique pour les infections de l'appareil urinaire, car ces deux antibiotiques sont rapidement excrétés, et cela en concentrations importantes dans les urines. Cependant, au vu de l'évolution des concentrations et du ratio dans les urines et dans l'hypothèse où la synergie entre les deux molécules n'est assurée que pour des ratios compris en 1/39 et 1/1, on peut proposer d'adapter le protocole en modifiant la fréquence d'administration de l'antibiotique pour une meilleure efficacité antibactérienne : des injections renouvelées toutes les 12h

pourraient permettre une couverture antibactérienne plus complète que pour le schéma thérapeutique initialement prévu par RCP.

En l'absence de données concernant les CMI de la sulfadoxine dans la base de données de EUCAST, nous avons utilisés les CMI du sulfaméthoxazole seul et en association avec le triméthoprimine pour commenter l'efficacité antibactérienne de la sulfadoxine seule et en association. Nos conclusions se basent sur l'hypothèse que le sulfaméthoxazole et la sulfadoxine ont des CMI similaires. Cependant, il serait intéressant de déterminer les CMI de la sulfadoxine pour confirmer nos observations.

## **4 Calcul des temps de détection**

Pour la sulfadoxine, la détermination des pentes d'élimination terminale et des intercepts montre des résultats relativement homogènes pour tous les chevaux dans le plasma. Cependant, pour les résultats urinaires, il y a deux chevaux (Rêve et Kepresh) pour lesquels l'équilibre de distribution ne semble pas être atteint, les concentrations deviennent inférieures aux limites de détection des analyseurs, ainsi la pente d'élimination et l'intercept sont probablement légèrement surestimés.

De même pour la cinétique d'élimination plasmatique du triméthoprimine, l'équilibre de distribution ne semblait pas atteint pour trois chevaux (Pitou, Diedo et Phénix). De manière générale, l'estimation des pentes d'élimination terminale pour le triméthoprimine et le desméthyltriméthoprimine dans le plasma était moins précise que pour la sulfadoxine. Le triméthoprimine et le desméthyltriméthoprimine présentent une élimination très lente, l'élimination terminale se fait à des concentrations très faibles que les analyseurs ne peuvent pas quantifier.

En pratique, les chevaux reçoivent un protocole thérapeutique complet (minimum 5 jours de traitement), or notre étude se place dans un modèle avec une injection unique. Au vu des données concernant la cinétique d'élimination des deux antibiotiques étudiés, les chevaux traités devraient présenter une accumulation de ces deux molécules. Ainsi les temps de détection déterminées dans cette étude peuvent être sous-estimés.

## **5 Calcul des temps de retrait**

Les effets considérés sont les effets antibactériens et d'après nos observations, l'efficacité de ces deux molécules, si on considère que le ratio n'est synergique qu'entre 1/1 et 1/39, est courte : elle n'excède pas 24h post administration. En considérant l'IPC comme égale à la CMI la plus basse pour chaque antibiotique corrigée par un facteur de sécurité de 500, nous avons obtenus des temps de retrait de 3j pour le triméthoprime et 5j pour la sulfadoxine. Ces temps de retrait sont plus courts que les temps de détection obtenus pour les LOQ les plus basses. En se basant sur les temps de détection, on exclurait donc les chevaux de la compétition ou des courses plus longtemps que nécessaire pour avoir une absence d'effet.

Cependant, cette association d'antibiotiques aurait une action anti-inflammatoire et immunomodulatrice. Ces propriétés ont principalement été montrées chez l'homme et à des doses thérapeutiques classiques (dose « antibiotique »). Cependant, nous n'avons pas d'information concernant les concentrations efficaces pour ces types d'action.

Ainsi les temps de retrait déterminés ici assure uniquement l'absence d'effet antibactérien.



# CONCLUSION

L'objectif de cette étude était dans un premier temps de déterminer les temps de détection du triméthoprime et de la sulfadoxine dans le cadre du contrôle antidopage. Cette association d'antibiotiques n'était jusqu'alors pas soumise aux contrôles. Cependant pour des raisons de respect du bien-être animal et pour contrer un éventuel détournement de son rôle d'antibiotique vers un rôle plutôt anti-inflammatoire, son statut se voit reconsidéré. Les temps de détection et les temps de retrait sont des données mises à disposition des vétérinaires pour minimiser le risque qu'un cheval éligible au traitement ressorte positif à l'issu des contrôles. Ils n'apportent cependant pas la garantie de la négativité lors du contrôle. Ainsi, le vétérinaire se doit d'exercer son plein jugement professionnel et prendre en considération la situation de l'animal et les informations les plus récentes avant de conseiller sur la date possible de son retour à la compétition.

Ainsi, dans cette étude, il est montré que le temps de détection du triméthoprime est de 216h (9 jours) pour une LOQ de 0,05ng/mL dans le sang et de 984h (41 jours) pour une LOQ de 1 ng/mL dans l'urine. Pour le métabolite du triméthoprime étudié, le temps de détection est de 143h (environ 6 jours) pour une LOQ de 0,05 ng/mL dans le plasma et de 1680h (70 jours) dans l'urine pour une LOQ de 1 ng/mL. Pour la sulfadoxine, le temps de détection dans le plasma est de 524h (22 jours) pour une LOQ de 0,05ng/mL et dans l'urine pour une LOQ de 1ng/mL, il est de 984h (41jours).

Les temps de retrait déterminés pour le triméthoprime et la sulfadoxine à partir de concentrations qui n'auraient aucun effet sont respectivement de 62h et 102h.

Dans le cadre du contrôle des médicaments, les temps de détection et de retrait des autres antibiotiques fréquemment utilisés chez le cheval restent à établir.

D'autre part nous avons pu constater que la formulation dans un ratio 1/5 pour une solution de triméthoprime et sulfadoxine ne semble pas permettre d'obtenir un ratio optimal de 1/19 dans le sang, cependant elle assure un ratio synergique dans les urines et reste une bonne indication pour les infections urinaires si on adapte la fréquence d'administration avec par exemple une injection toutes les 12 heures au lieu des 24h indiquées dans le RCP du produit. Par ailleurs, il reste à caractériser les potentiels effets indésirables d'une augmentation de fréquence d'administration puisqu'elle risque d'engendrer une accumulation plus importante des

antibiotiques au cours des 5 jours de traitement. Ainsi une étude plus approfondie semble nécessaire afin de développer un protocole thérapeutique efficace et sûr.

L'association triméthoprim-sulfamide est fréquemment utilisée chez le cheval, et fait partie des rares antibiotiques qui peuvent être administrés par voie orale chez le cheval. Il serait intéressant d'étudier l'évolution du ratio entre le triméthoprim et d'autres sulfamides chez le cheval. Chez l'Homme par exemple, après administration d'une formulation conçue dans un ratio de 1/5, le ratio se maintient entre 1/5 et 1/40 dans le plasma notamment en raison de leur temps de demi-vie similaire : entre 10 et 12h pour le triméthoprim et 11h pour le sulfaméthoxazole (Reeves, Wilkinson 1979). Ainsi il se pourrait que certains sulfamides soient plus adaptés pour être associés avec le triméthoprim et donc garantir une synergie plus durable.

La synergie entre le triméthoprim et les sulfamides pour certains ratios a été démontrée *in vitro*. Cependant ces résultats n'ont pas été confirmés par des études *in vivo*, et ce notamment pour des raisons éthiques. Cependant, il est important de noter que les associations triméthoprim-sulfamides présentent une bonne efficacité clinique et nos observations nous amènent à conclure que l'efficacité de l'antibiotique dépend aussi de l'intensité de la synergie et que celle-ci reste à caractériser pour d'autre plage de ratios que celle étudiée ici.

Malgré les contributions apportées par cette étude, celle-ci présente certaines limites car les conditions expérimentales diffèrent de la réalité terrain : l'activité physique des chevaux de l'étude et leur niveau de stress se sont pas comparables à ceux des chevaux visés lors des contrôles ; les doses employées et fréquences d'administration du médicament peuvent être différentes de celle qui ont été choisies pour ces expériences ; les chevaux contrôlés peuvent avoir été exposés à plusieurs substances.

Ainsi, ces limites, bien qu'elles n'enlèvent rien à la valeur des résultats décrits, appellent à une réflexion critique sur les conclusions tirées.

Le contrôle antidopage reste une course entre la découverte de nouvelles molécules et méthodes et la mise en place de technologies et méthodes analytiques pour les déceler. Le contrôle des médications chez les chevaux est donc une pratique en constante évolution qui nécessite régulièrement des ajustements et une révision continue des listes de substances interdites ou contrôlées.

Le défis de ces dernières années, que ce soit chez l'homme ou chez le cheval, concerne le « dopage génétique ». En effet, les technologies actuelles permettent de transférer des gènes, d'en supprimer la traduction ou encore de les éditer (Tozaki, Hamilton 2022). Le cas le plus médiatisé est celui de l'entraîneur allemand Thomas Springtein, ancien entraîneur de l'école de

sprint de Magdebourg, accusé en Janvier 2006 d'avoir fournis du « Repoxygen » à certains de ses athlètes. Le Repoxygen était alors un futur «gène médicament» développé par une firme de biotechnologie britannique, pour combattre l'anémie sévère (*Avec le Repoxygen, premier exemple de dopage génétique* 2009).

Si l'édition des gènes chez les embryons humains restent un scénario peu probable, cela pourrait devenir une réalité tangible chez les chevaux. L'inactivation du gène MSTN (gène codant pour la myostatine) dans des embryons de chevaux a été réalisée par une société de biotechnologie basée en Argentine avec un objectif affiché ouvertement : générer des chevaux dotés de capacités sportives améliorées grâce un programme d'élevage de précision.

Les méthodes de détection de ce type de dopage reposent principalement sur la PCR, il reste relativement difficile à mettre en évidence. Les politiques de détection doivent donc accorder une grande importance à la surveillance des cliniques et instituts de reproduction artificielle, car ce sont les prestataires susceptibles de mettre en œuvre des modifications génétiques chez les embryons.

Ceci illustre la nécessité d'adaptation de la lutte antidopage et du contrôle des médicaments et nous donne un aperçu des défis à venir(Tozaki, Hamilton 2022).



# Bibliographie

- A. MERCER, Melissa, 2022. Sulfonamides and Sulfonamide Combinations Use in Animals - Pharmacology. *MSD Veterinary Manual* [en ligne]. novembre 2022. [Consulté le 9 décembre 2023]. Disponible à l'adresse : <https://www.msdveterinary.com/pharmacology/antibacterial-agents/sulfonamides-and-sulfonamide-combinations-use-in-animals>
- ALLARD, Ludovic, DALY, Marie-Josée, DUBRA, Alexandre et KAMMACHER, Mélissa, 2008. *Histoire du dopage. Arrêté du 2 mai 2011 relatif aux substances et aux procédés mentionnés à l'article L. 241-2 du code du sport*, 2011. [en ligne]. [Consulté le 11 décembre 2023]. Disponible à l'adresse : <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000024493485/>
- ASTBURY, C., HILL, J. et BIRD, H. A., 1988. Co-trimoxazole in rheumatoid arthritis: a comparison with sulphapyridine. *Annals of the Rheumatic Diseases*. avril 1988. Vol. 47, n° 4, pp. 323-327. DOI 10.1136/ard.47.4.323.
- Avec le Repoxygen, premier exemple de dopage génétique, 2009. *Le Figaro* [en ligne]. [Consulté le 13 janvier 2024]. Disponible à l'adresse : <https://www.lefigaro.fr/sport/2009/08/25/02001-20090825ARTFIG00015-avec-le-repoxygen-premier-exemple-de-dopage-genetique-.php>
- BARBOUSSAT, Céline, 2007. *Chevaux de course, chevaux de sport et contrôles anti-dopage : situation en 2006* [en ligne]. Grenoble : Université Joseph Fourier. Disponible à l'adresse : <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01145307>
- BENOIT, Marion, 2002. *Role des contaminants alimentaires dans le contrôle antidopage chez le cheval : étude de l'atropine, la scopolamine, la caféine et la theobromine*. Docteur en pharmacie. Limoges : Université de Limoges - Faculté de Pharmacie.
- BROWN, M. P., GRONWALL, R. et CASTRO, L., 1988. Pharmacokinetics and body fluid and endometrial concentrations of trimethoprim-sulfamethoxazole in mares. *American Journal of Veterinary Research*. juin 1988. Vol. 49, n° 6, pp. 918-922.
- BRUYAS, J-F, 2013. Lutte contre le dopage dans les sports hippiques et équestres en France : principes et pratiques. *Bulletin des GTV*. 2013. N° 71, pp. 81-89.
- BWAKURA-DANGAREMBIZI, Mutsawashe, KENDALL, Lindsay, BAKEERA-KITAKA, Sabrina, NAHIRYA-NTEGE, Patricia, KEISHANYU, Rosette, NATHOO, Kusum, SPYER, Moira J., KEKITIINWA, Adeodata, LUTAAKOME, Joseph, MHUTE, Tawanda, KASIRYE, Philip, MUNDERI, Paula, MUSIIME, Victor, GIBB, Diana M., WALKER, A. Sarah et PRENDERGAST, Andrew J., 2014. A randomized trial of prolonged co-trimoxazole in HIV-infected children in Africa. *The New England Journal of Medicine*. 2 janvier 2014. Vol. 370, n° 1, pp. 41-53. DOI 10.1056/NEJMoa1214901.
- CAZEAU, Géraldine, COLLINEAU, Lucie, HAENNI, Marisa, JARRIGUE, Nathalie, JOUY, Eric, LUPO, Agnese et MADEC, Jean-Yves, 2022. *Réseau d'épidémiologie de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales - Bilan 2021* [en ligne]. Lyon et Ploufragan-Plouzané-Niort : ANSES. Disponible à l'adresse : <https://www.anses.fr/fr/system/files/LABO-Ra-Resapath2021.pdf>
- CHOUDHARI, Omkar Kalidasrao, SPALGIS, Sonam et OJHA, Umesh Chandra, 2020. Cotrimoxazole as adjuvant therapy in critical ill COVID 19 patients. *Journal of Ideas in Health*. 25 septembre 2020. Vol. 3, n° Special1, pp. 196-197. DOI 10.47108/jidhealth.Vol3.IssSpecial1.60.
- CLARKE, E. G. et MOSS, M. S., 1976. A brief history of dope detection in racehorses. *British Journal of Sports Medicine* [en ligne]. 1 octobre 1976. Vol. 10, n° 3, pp. 100-102.

[Consulté le 31 décembre 2023]. DOI 10.1136/bjism.10.3.100. Disponible à l'adresse : <https://bjism.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bjism.10.3.100>

DABAREINER, Robin M, WHITE, Nathaniel A et SULLINS, Kenneth E, 1997. Comparison of Current Techniques for Palmar Digital Neurectomy in Horses. . 1997.

DELIZY, Jenifer, 2004. *LES SULFAMIDES POTENTIALISES : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE DES UTILISATIONS CHEZ LES CARNIVORES DOMESTIQUES ET LES NOUVEAUX ANIMAUX DE COMPAGNIE*. Thèse pour doctorat vétérinaire. Maisons-Alfort : Faculté de médecine de Créteil.

DR MASSON et MARTINET M, 2018. *Lutte contre le dopage , la FFE vous informe* [en ligne]. Disponible à l'adresse : [https://www.ffe.com/system/files/ffe/documents/pdf/LUTTE\\_CONTRE\\_LE\\_DOPAGE\\_INFORMATIONS\\_FFE.pdf](https://www.ffe.com/system/files/ffe/documents/pdf/LUTTE_CONTRE_LE_DOPAGE_INFORMATIONS_FFE.pdf)

DRAPEAU, IFCE-Observatoire Économique et Social du Cheval (OESC);Caroline, 2022. Les chiffres sur les activités liées aux courses en France. [en ligne]. 9 septembre 2022. [Consulté le 10 décembre 2023]. Disponible à l'adresse : <https://equipedia.ifce.fr/economie-et-filiere/economie/chiffres-cles-de-la-filiere/les-chiffres-sur-les-activites-liees-aux-courses-en-france>

EQUIDIA, 2020. Propulsion suspendu de la compétition. [en ligne]. 3 juin 2020. [Consulté le 2 décembre 2023]. Disponible à l'adresse : <https://www.equidia.fr/articles/actualite/propulsion-suspendu-de-la-competition>

Equitation: la France perd sa qualification en complet pour Rio, 2015. *Le Point* [en ligne]. [Consulté le 2 décembre 2023]. Disponible à l'adresse : [https://www.lepoint.fr/sport/equitation-la-france-perd-sa-qualification-en-complet-pour-les-jo-de-rio-23-04-2015-1923747\\_26.php](https://www.lepoint.fr/sport/equitation-la-france-perd-sa-qualification-en-complet-pour-les-jo-de-rio-23-04-2015-1923747_26.php)

ESCMID EXECUTIVE OFFICE, 2024. MIC EUCAST. [en ligne]. 2024. [Consulté le 22 janvier 2024]. Disponible à l'adresse : <https://mic.eucast.org/search/>

FEI, 2022a. *Equine Anti-Doping and Controlled Medication Regulations - 3rd edition, effective 1 January 2021, updates effective 1 January 2023* [en ligne]. 2022. Disponible à l'adresse : [chrome-extension://efaidnbmninnkcbpcbjpcpglclefndmkaj/https://inside.fei.org/sites/default/files/EADC\\_MRs-%201%20January%202021-Updates%20effective%201%20January%202023%20-%20Clean\\_0.pdf](chrome-extension://efaidnbmninnkcbpcbjpcpglclefndmkaj/https://inside.fei.org/sites/default/files/EADC_MRs-%201%20January%202021-Updates%20effective%201%20January%202023%20-%20Clean_0.pdf)

FEI, 2022b. *2023 Equine Prohibited Substances List* [en ligne]. 5 décembre 2022. Disponible à l'adresse : <https://inside.fei.org/sites/default/files/2023%20Prohibited%20Substances%20List.pdf>

FEI, 2023. *2024 Equine Prohibited Substances List* [en ligne]. 4 décembre 2023. Disponible à l'adresse : <https://inside.fei.org/sites/default/files/2024%20Prohibited%20Substances%20List.pdf>

FERIA-GARZÓN, Manuel G., RUGELES, María T., HERNANDEZ, Juan C., LUJAN, Jorge A. et TABORDA, Natalia A., 2019. Sulfasalazine as an Immunomodulator of the Inflammatory Process during HIV-1 Infection. *International Journal of Molecular Sciences*. 11 septembre 2019. Vol. 20, n° 18, pp. 4476. DOI 10.3390/ijms20184476.

FFE, 2018. *Organiser une manifestation - Memento juridique d'aide à l'organisation de manifestations sportives* [en ligne]. Disponible à l'adresse : [https://www.ffe.com/system/files/ffe-ressources/doc/pdf/DOSSIER\\_ORGANISATEUR\\_DE\\_COMPETITION.pdf](https://www.ffe.com/system/files/ffe-ressources/doc/pdf/DOSSIER_ORGANISATEUR_DE_COMPETITION.pdf)

FFE, 2023. *Modalités de sélection - Championnat du Monde Jeunes CASTELSAGRAT (FRA) Le 2 septembre 2023* [en ligne]. 13 avril 2023. Disponible à l'adresse : [https://www.ffe.com/system/files/disciplines-endurance/haut-niveau/MODALITES\\_SELECTION\\_CHAMPIONNAT\\_DU\\_MONDE\\_JUNIORS\\_ENDUR](https://www.ffe.com/system/files/disciplines-endurance/haut-niveau/MODALITES_SELECTION_CHAMPIONNAT_DU_MONDE_JUNIORS_ENDUR)

ANCE\_2023\_1.pdf

FOLTZER, Michael A. et REESE, Richard E., 1987. Trimethoprim-Sulfamethoxazole and Other Sulfonamides. *Medical Clinics of North America* [en ligne]. novembre 1987. Vol. 71, n° 6, pp. 1177-1194. [Consulté le 8 janvier 2024]. DOI 10.1016/S0025-7125(16)30805-7.

Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025712516308057>

FRANCE GALOP, 2023a. *Code des courses au galop* [en ligne]. 1 septembre 2023.

Disponible à l'adresse : chrome-

extension://efaidnbmnnnibpcajpcgglefindmkaj/https://www.fnch.fr/sites/default/files/edito/docs/France\_Galop\_code\_01.09.2023.pdf

FRANCE GALOP, 2023b. Chevaux | France Galop. *France Galop* [en ligne]. 1 décembre 2023. [Consulté le 20 décembre 2023]. Disponible à l'adresse : <https://www.france-galop.com/fr/hommes-chevaux/chevaux?specialite=0>

GARCÍA-GALÁN, M<sup>a</sup> Jesús, SILVIA DÍAZ-CRUZ, M. et BARCELÓ, Damià, 2008.

Identification and determination of metabolites and degradation products of sulfonamide antibiotics. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [en ligne]. décembre 2008. Vol. 27, n° 11, pp. 1008-1022. [Consulté le 4 janvier 2024]. DOI 10.1016/j.trac.2008.10.001. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993608002112>

Gertrude Elion, 2023. *American Chemical Society* [en ligne]. [Consulté le 9 décembre 2023]. Disponible à l'adresse : <https://www.acs.org/education/whatischemistry/women-scientists/gertrude-elion.html>

GIGUÈRE, S., PRESCOTT, John F. et DOWLING, Patricia M. (éd.), 2013. *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*. 5th ed. Ames, Iowa, USA : Wiley Blackwell. ISBN 978-0-470-96302-9. SF918.A48 A58 2013

GRISON, Anne-Claire et DULUARD, A., 2015. Organisation de la lutte antidopage. *Equipédia* [en ligne]. 1 janvier 2015. [Consulté le 11 décembre 2023]. Disponible à l'adresse : <https://equipedia.ifce.fr/sante-et-bien-etre-animal/soin-prevention-et-medication/medication/organisation-de-la-lutte-antidopage>

HINCHCLIFF, K.W., COUETIL, L.L., KNIGHT, P.K., MORLEY, P.S., ROBINSON, N.E., SWEENEY, C.R. et VAN ERCK, E., 2015. Exercise Induced Pulmonary Hemorrhage in Horses: American College of Veterinary Internal Medicine Consensus Statement. *Journal of Veterinary Internal Medicine* [en ligne]. mai 2015. Vol. 29, n° 3, pp. 743-758. [Consulté le 4 janvier 2024]. DOI 10.1111/jvim.12593. Disponible à l'adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jvim.12593>

HOLT, Richard I.G., EROTOKRITOU-MULLIGAN, Ioulietta et SÖNKSEN, Peter H., 2009. The history of doping and growth hormone abuse in sport. *Growth Hormone & IGF Research* [en ligne]. août 2009. Vol. 19, n° 4, pp. 320-326. [Consulté le 31 décembre 2023]. DOI 10.1016/j.ghir.2009.04.009. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1096637409000525>

HUBERT, Bettina, 2021. Maltraitance animale : la loi inscrite au Journal Officiel. *Cheval Magazine* [en ligne]. 8 décembre 2021. [Consulté le 2 décembre 2023]. Disponible à l'adresse : <https://www.chevalmag.com/bien-etre/protection-des-chevaux/maltraitance-animale-la-loi-inscrite-au-journal-officiel/>

INSTITUT FRANÇAIS DU CHEVAL ET DE L'ÉQUITATION, 2019. *Le Marché du Cheval de Course en France* [en ligne]. février 2019. Disponible à l'adresse : [https://www.ifce.fr/wp-content/uploads/2019/02/IFCE\\_OESC\\_synthese-marché\\_course.pdf#:~:text=L%27âge%20moyen%20à%20,et%20rarement%20après%2010%20ans](https://www.ifce.fr/wp-content/uploads/2019/02/IFCE_OESC_synthese-marché_course.pdf#:~:text=L%27âge%20moyen%20à%20,et%20rarement%20après%2010%20ans)

INSTITUT FRANÇAIS DU CHEVAL ET DE L'ÉQUITATION, 2022. *Chiffres clés 2022* [en ligne]. IFCE. Disponible à l'adresse : <https://equipedia.ifce.fr/fileadmin/bibliotheque/6.Statistiques/6.1.Ecus-depliant/IFCE->

INSTITUT FRANÇAIS DU CHEVAL ET DE L'ÉQUITATION, 2022. *Chiffres clés 2022* [en ligne]. IFCE. Disponible à l'adresse : <https://equipedia.ifce.fr/fileadmin/bibliotheque/6.Statistiques/6.1.Ecus-depliant/IFCE->

INSTITUT FRANÇAIS DU CHEVAL ET DE L'ÉQUITATION, 2022. *Chiffres clés 2022* [en ligne]. IFCE. Disponible à l'adresse : <https://equipedia.ifce.fr/fileadmin/bibliotheque/6.Statistiques/6.1.Ecus-depliant/IFCE->

INSTITUT FRANÇAIS DU CHEVAL ET DE L'ÉQUITATION, 2022. *Chiffres clés 2022* [en ligne]. IFCE. Disponible à l'adresse : <https://equipedia.ifce.fr/fileadmin/bibliotheque/6.Statistiques/6.1.Ecus-depliant/IFCE->

INSTITUT FRANÇAIS DU CHEVAL ET DE L'ÉQUITATION, 2022. *Chiffres clés 2022* [en ligne]. IFCE. Disponible à l'adresse : <https://equipedia.ifce.fr/fileadmin/bibliotheque/6.Statistiques/6.1.Ecus-depliant/IFCE->

Depliant-chiffres-cles-2022-WEB.pdf

KAMERLING, Steven G., 1993. Assessment of Drug Effects on Performance. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. décembre 1993. Vol. 9, n° 3, pp. 493-510.

DOI 10.1016/S0749-0739(17)30382-6.

KAPOOR, Vijay K., 1988. Sulfadoxine. In : *Analytical Profiles of Drug Substances* [en ligne]. Elsevier. pp. 571-605. [Consulté le 10 décembre 2023]. ISBN 978-0-12-260817-9.

Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0099542808602269>

KATO, R., CHIESARA, E. et FRONTINO, G., 1962. Influence of sex difference on the pharmacological action and metabolism of some drugs. *Biochemical Pharmacology*. mars 1962. Vol. 11, n° 3, pp. 221-227. DOI 10.1016/0006-2952(62)90077-1.

LAMBOLEZ, Paul-Edouard, 2011. *Aspects techniques et réglementaires de la lutte contre le dopage dans le milieu équestre: conséquences sur les performances*. Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Nancy : Université Henri Poincaré - Nancy 1.

LAROUSSE, Éditions, 2023. Définitions : dopage - Dictionnaire de français Larousse.

[en ligne]. 2023. [Consulté le 2 décembre 2023]. Disponible à l'adresse :

<https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/dopage/26452>

Le dopage | Fédération Française d'Équitation - FFE, 2022. *Fédération Française d'Équitation* [en ligne]. [Consulté le 10 décembre 2023]. Disponible à l'adresse :

<https://www.ffe.com/faq/Le-dopage>

*Le nouveau praticien vétérinaire équine - Dossier : dopage et lutte anti-dopage*, 2021. .

NEVA. 53.

LeTROT - Devenir propriétaire - Guide détaillé - Gains de courses, 2023. [en ligne].

[Consulté le 1 septembre 2022]. Disponible à l'adresse : [http://devenir-](http://devenir-proprietaire.letrot.com/gains-de-courses)

[proprietaire.letrot.com/gains-de-courses](http://devenir-proprietaire.letrot.com/gains-de-courses)

Liste des interdictions, 2022. *Agence mondiale antidopage* [en ligne].

[Consulté le 11 décembre 2023]. Disponible à l'adresse : [https://www.wada-ama.org/fr/liste-](https://www.wada-ama.org/fr/liste-des-interdictions)

[des-interdictions](https://www.wada-ama.org/fr/liste-des-interdictions)  
*LOI n° 2008-650 du 3 juillet 2008 relative à la lutte contre le trafic de produits dopants (1)*, 2008. .

*LOI n° 2021-194 du 23 février 2021 habilitant le Gouvernement à prendre les mesures relevant du domaine de la loi nécessaires pour assurer la conformité du droit interne aux principes du code mondial antidopage et renforcer l'efficacité de la lutte contre le dopage (1) - Légifrance*, 2023. [en ligne]. [Consulté le 10 décembre 2023]. Disponible à l'adresse :

<https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000043173052/>

*Loi n°65-412 du 1 juin 1965 TENDANT A LA REPRESSION DE L'USAGE DES STIMULANTS A L'OCCASION DES COMPETITIONS SPORTIVES*, 1965. .

MACHADO, Pierre, 2022. TEMOIGNAGE. *Équitation*. Julien Epaillard : « Il faut en profiter mais garder les pieds sur terre ». *Ouest-France.fr* [en ligne]. 2 novembre 2022.

[Consulté le 10 décembre 2023]. Disponible à l'adresse : [https://www.ouest-](https://www.ouest-france.fr/sport/equitation/temoignage-equitation-julien-epaillard-il-faut-en-profiter-mais-garder-les-pieds-sur-terre-a5b7187a-5909-11ed-bdef-1ab9c6d3e6a2)

[france.fr/sport/equitation/temoignage-equitation-julien-epaillard-il-faut-en-profiter-mais-](https://www.ouest-france.fr/sport/equitation/temoignage-equitation-julien-epaillard-il-faut-en-profiter-mais-garder-les-pieds-sur-terre-a5b7187a-5909-11ed-bdef-1ab9c6d3e6a2)

[garder-les-pieds-sur-terre-a5b7187a-5909-11ed-bdef-1ab9c6d3e6a2](https://www.ouest-france.fr/sport/equitation/temoignage-equitation-julien-epaillard-il-faut-en-profiter-mais-garder-les-pieds-sur-terre-a5b7187a-5909-11ed-bdef-1ab9c6d3e6a2)

MEULY, Astrid, 2019. *Pharmacocinétique du diazépam chez le cheval dans le cadre de la lutte anti-dopage*. [en ligne]. other. [Consulté le 9 décembre 2023]. Disponible à l'adresse : <https://oatao.univ-toulouse.fr/25615/>

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE LA SOUVERAINETÉ ALIMENTAIRE, 2023. *ECOANTIBIO 3 Réduire les risques d'antibiorésistance et promouvoir le bon usage des antimicrobiens en médecine vétérinaire - Plan national 2023-2028*.

MITCHELL, E., FURR, M. O. et MCKENZIE, H. C., 2006. Bacterial meningitis in five mature horses. *Equine Veterinary Education*. octobre 2006. Vol. 18, n° 5, pp. 249-255.

DOI 10.1111/j.2042-3292.2006.tb00457.x.

MOUTON, J. W., THEURETZBACHER, U., CRAIG, W. A., TULKENS, P. M., DERENDORF, H. et CARS, O., 2007. Tissue concentrations: do we ever learn? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [en ligne]. 19 décembre 2007. Vol. 61, n° 2, pp. 235-237. [Consulté le 24 janvier 2024]. DOI 10.1093/jac/dkm476. Disponible à l'adresse : <https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dkm476>

MÜLLER, Rudhard Klaus, 2009. History of Doping and Doping Control. In : THIEME, Detlef et HEMMERSBACH, Peter (éd.), *Doping in Sports* [en ligne]. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg. pp. 1-23. Handbook of Experimental Pharmacology. [Consulté le 2 décembre 2023]. ISBN 978-3-540-79087-7. Disponible à l'adresse : [http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-79088-4\\_1](http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-79088-4_1)

Nantes. 'Cheval fou à l'hippodrome' : le spectre du dopage [vidéo], 2016. [en ligne]. [Consulté le 10 décembre 2023]. Disponible à l'adresse : [https://lemans.maville.com/actu/actudet\\_-nantes.-cheval-fou-a-l-hippodrome-le-spectre-du-dopage-%5bvideo%5d\\_52734-3089315\\_actu.Htm](https://lemans.maville.com/actu/actudet_-nantes.-cheval-fou-a-l-hippodrome-le-spectre-du-dopage-%5bvideo%5d_52734-3089315_actu.Htm)

NOLTE, Whitney M., TESSMAN, Robert T. et GOLDMAN, Jennifer L., 2020. Screening Trimethoprim Primary Metabolites for Covalent Binding to Albumin. *Medicinal Chemistry Research: An International Journal for Rapid Communications on Design and Mechanisms of Action of Biologically Active Agents*. juillet 2020. Vol. 29, n° 7, pp. 1238-1246. DOI 10.1007/s00044-020-02570-z.

PECK, Kenneth E., MATTHEWS, Nora S., TAYLOR, Tex S. et MEALEY, Katrina L., 2002. Pharmacokinetics of sulfamethoxazole and trimethoprim in donkeys, mules, and horses. *American Journal of Veterinary Research*. 1 mars 2002. Vol. 63, n° 3, pp. 349-353. DOI 10.2460/ajvr.2002.63.349.

PLUMB, Donald C., 2011. *Veterinary drug handbook*. Pocket 7. ed. Ames, Iowa : Wiley Blackwell. ISBN 978-0-470-95965-7.

POPOT, Marie-Agnes, LOUP, Benoit, MACIEJEWSKI, Pascal, REMY, Pierre, GARCIA, Patrice, BAILLY-CHOURIBERRY, Ludovic, FEUILLADE, Geneviève, PALLIER, Virginie, WIMEL, Laurence, GADOT, Paul Marie et BOURGUIGNON, Hélène, 2018. L'arsenic et le contrôle antidopage des chevaux. . 2018.

RANG, H. P. et DALE, M. Maureen, 1987. *Pharmacology*. Edinburgh ; New York : Churchill Livingstone. ISBN 978-0-443-03407-7. RM300 .R35 1987

REEVES, D. S. et WILKINSON, P. J., 1979. The pharmacokinetics of trimethoprim and trimethoprim/sulphonamide combinations, including penetration into body tissues. *Infection*. juillet 1979. Vol. 7, n° S4, pp. S330-S341. DOI 10.1007/BF01639009.

RÉSEAU ÉQUIN, 2011. Évolution des usages du cheval. [en ligne]. 3 janvier 2011. [Consulté le 28 décembre 2023]. Disponible à l'adresse : <https://equipedia.ifce.fr/economie-et-filiere/economie/chiffres-cles-de-la-filiere/l-evolution-des-usages-du-cheval>

SETF, 2023. *Règlement de la Société d'Encouragement à l'Élevage du Trotteur Français formant le Code des Courses au Trot* [en ligne]. 2023. Disponible à l'adresse : [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.fnch.fr/sites/default/files/edito/docs/SETF\\_code\\_100823.pdf](chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.fnch.fr/sites/default/files/edito/docs/SETF_code_100823.pdf)

SIGEL, C. W., BYARS, T. D., DIVERS, T. J., MURCH, O. et DEANGELIS, D., 1981. Serum concentrations of trimethoprim and sulfadiazine following oral paste administration to the horse. *American Journal of Veterinary Research*. novembre 1981. Vol. 42, n° 11, pp. 2002-2005.

SLEEPER, Margaret M, KEARNS, Charles F et MCKEEVER, KENNETH H, 2002. Chronic clenbuterol administration negatively alters cardiac function. . 2002.

SPANOUDES (Κ. ΣΠΑΝΟΥΔΗΣ), K. et DIAKAKIS (Ν. ΔΙΑΚΑΚΗΣ), N., 2017. Equine doping: perceptions, adverse effects and Cyprus hippodrome case review for the years 2001-2010. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*. 27 décembre 2017. Vol. 66, n° 1,

pp. 15. DOI 10.12681/jhvms.15578.

STEINMAN, Amir et NAVON-VENEZIA, Shiri, 2020. Antimicrobial Resistance in Horses. *Animals*. 9 juillet 2020. Vol. 10, n° 7, pp. 1161. DOI 10.3390/ani10071161.

TOUTAIN, P. L. et LASSOURD, V., 2002. Pharmacokinetic/pharmacodynamic approach to assess irrelevant plasma or urine drug concentrations in postcompetition samples for drug control in the horse. *Equine Veterinary Journal*. mai 2002. Vol. 34, n° 3, pp. 242-249. DOI 10.2746/042516402776185985.

TOUTAIN, Pierre-Louis, 2005. Du contrôle anti-dopage aux contrôles des médicaments chez le cheval : l'approche européenne. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France* [en ligne]. 2005. Vol. 158, n° 1, pp. 31-38. [Consulté le 10 décembre 2023]. DOI 10.4267/2042/47749. Disponible à l'adresse : [https://www.persee.fr/doc/bavf\\_0001-4192\\_2005\\_num\\_158\\_1\\_7491](https://www.persee.fr/doc/bavf_0001-4192_2005_num_158_1_7491)

TOUTAIN, Pierre-Louis, BOUSQUET-MÉLOU, Alain, DAMBORG, Peter, FERRAN, Aude A., MEVIUS, Dik, PELLIGAND, Ludovic, VELDMAN, Kees T. et LEES, Peter, 2017. En Route towards European Clinical Breakpoints for Veterinary Antimicrobial Susceptibility Testing: A Position Paper Explaining the VetCAST Approach. *Frontiers in Microbiology* [en ligne]. 15 décembre 2017. Vol. 8, pp. 2344. [Consulté le 8 janvier 2024]. DOI 10.3389/fmicb.2017.02344. Disponible à l'adresse : <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.02344/full>

TOUTAIN, Pierre-Louis, PELLIGAND, Ludovic, LEES, Peter, BOUSQUET-MÉLOU, Alain, FERRAN, Aude A. et TURNIDGE, John D., 2021. The pharmacokinetic/pharmacodynamic paradigm for antimicrobial drugs in veterinary medicine: Recent advances and critical appraisal. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* [en ligne]. mars 2021. Vol. 44, n° 2, pp. 172-200. [Consulté le 8 janvier 2024]. DOI 10.1111/jvp.12917. Disponible à l'adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jvp.12917>

TOUTAIN, P.-L., 2010. How to extrapolate a withdrawal time from an EHSLC published detection time: a Monte Carlo simulation appraisal. *Equine Veterinary Journal*. avril 2010. Vol. 42, n° 3, pp. 248-254. DOI 10.1111/j.2042-3306.2010.00028.x.

TOZAKI, Teruaki et HAMILTON, Natasha A., 2022. Control of gene doping in human and horse sports. *Gene Therapy* [en ligne]. avril 2022. Vol. 29, n° 3-4, pp. 107-112. [Consulté le 13 janvier 2024]. DOI 10.1038/s41434-021-00267-5. Disponible à l'adresse : <https://www.nature.com/articles/s41434-021-00267-5>

VAN DUIJKEREN, E., VULTO, A. G. et VAN MIERT, A. S., 1994. Trimethoprim/sulfonamide combinations in the horse: a review. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. février 1994. Vol. 17, n° 1, pp. 64-73. DOI 10.1111/j.1365-2885.1994.tb00524.x.

WILSON, W David, 2001. Rational Selection of Antimicrobials for Use in Horses. . 2001.



# Annexes

Annexe 1: Prélèvements et résultats sanguins

Cheval	Date et heure de l'administration	Date et heure de prélèvement	Temps du prélèvement prévu par le protocole après l'administration (h)	Temps réel du prélèvement après l'administration (h)	Concentration plasmatique en sulfadoxine (ng/mL)	Concentration plasmatique en triméthoprime (ng/mL)	Concentration plasmatique en desméthyltriméthoprime (ng/mL)
Leridano	01/10/2018 08:00	25/09/2018 08:12	0	0,00	0,00	0,00	0,00
		01/10/2018 08:05	0,08	0,08	86400,00	3190,00	56,70
		01/10/2018 08:15	0,25	0,25	61500,00	1770,00	50,60
		01/10/2018 08:30	0,5	0,50	62000,00	1130,00	42,40
		01/10/2018 09:00	1	1,00	52300,00	928,00	41,20
		01/10/2018 10:00	2	2,00	39500,00	336,00	32,30
		01/10/2018 12:00	4	4,00	27200,00	219,00	25,00
		01/10/2018 16:00	8	8,00	16500,00	53,10	6,39
		01/10/2018 20:00	12	12,00	10400,00	13,50	2,96
		02/10/2018 08:00	24	24,00	3220,00	0,87	0,22
		02/10/2018 20:00	36	36,00	716,00	0,51	0,11
		03/10/2018 08:00	48	48,00	83,50	0,18	0,03
		04/10/2018 08:00	72	72,00	3,44	0,12	0,00
		05/10/2018 08:00	96	96,00	0,95	0,07	0,00
		06/10/2018 08:01	120	120,02	0,54	0,04	0,00
		08/10/2018 08:00	168	168,00	0,24	0,07	0,00
		10/10/2018 08:07	216	216,12	0,19	0,00	0,00
13/10/2018 08:00	264	288,00	0,13	0,00	0,00		
Kepresh	01/10/2018 08:10	25/09/2018 08:13	0	0,00	0,00	0,00	0,00
		01/10/2018 08:15	0,08	0,08	93200	3110,00	62,50
		01/10/2018 08:25	0,25	0,25	63900	1710,00	55,40
		01/10/2018 08:40	0,5	0,50	62900	1100,00	54,90
		01/10/2018 09:11	1	1,02	47500	754,00	55,00
		01/10/2018 10:10	2	2,00	40800	286,00	38,20
		01/10/2018 12:11	4	4,02	30500	93,60	21,80
		01/10/2018 16:10	8	8,00	14300	26,10	5,60
		01/10/2018 20:10	12	12,00	11900	12,70	2,72
		02/10/2018 08:10	24	24,00	1690	0,612	0,15
		02/10/2018 20:03	36	35,88	697	0,58	0,11
		03/10/2018 08:10	48	48,00	72,9	0,25	0,04
		04/10/2018 08:10	72	72,00	2,55	0,05	0,00
		05/10/2018 08:10	96	96,00	0,709	0,08	0,00
		06/10/2018 08:10	120	120,00	0,476	0,02	0,00
		08/10/2018 08:10	168	168,00	0,218	0,00	0,00
		10/10/2018 08:10	216	216,00	0,195	0,00	0,00
13/10/2018 08:10	264	288,00	0,146	0,00	0,00		

Cheval	Date et heure de l'administration	Date et heure de prélèvement	Temps du prélèvement prévu par le protocole après l'administration (h)	Temps réel du prélèvement après l'administration (h)	Concentration plasmatique en sulfadoxine (ng/mL)	Concentration plasmatique en triméthoprine (ng/mL)	Concentration plasmatique en desméthyltriméthoprine (ng/mL)
Nobel	15/04/2019 08:00	02/04/2019 08:00	0	0,00	0,00	0,00	0,00
		15/04/2019 08:05	0,08	0,08	96500,00	3860,00	82,90
		15/04/2019 08:15	0,25	0,25	62000,00	1650,00	89,30
		15/04/2019 08:30	0,5	0,50	49300,00	1020,00	63,60
		15/04/2019 09:01	1	1,02	48600,00	790,00	57,40
		15/04/2019 10:00	2	2,00	37000,00	314,00	37,90
		15/04/2019 12:01	4	4,02	26000,00	128,00	20,90
		15/04/2019 16:00	8	8,00	14600,00	31,70	5,99
		15/04/2019 20:00	12	12,00	11000,00	7,57	1,89
		16/04/2019 08:01	24	24,02	1950,00	0,45	0,10
		16/04/2019 19:47	36	35,78	72,60	0,30	0,05
		17/04/2019 08:00	48	48,00	48,40	0,19	0,14
		18/04/2019 08:00	72	72,00	1,74	0,08	0,12
		19/04/2019 08:00	96	96,00	0,67	0,10	0,00
		20/04/2019 07:59	120	119,98	0,42	0,06	0,00
		22/04/2019 08:00	168	168,00	0,41	0,06	0,00
		24/04/2019 08:00	216	216,00	0,13	0,00	0,00
		26/04/2019 07:58	264	263,97	0,06	0,00	0,00
28/04/2019 08:00	312	312,00	0,03	0,00	0,00		
30/04/2019 08:00	360	360,00	0,03	0,00	0,00		
Rêve	15/04/2019 08:06	02/04/2019 08:06	0	0,00	0,00	0,00	0,00
		15/04/2019 08:11	0,08	0,08	83200	3410,00	37,00
		15/04/2019 08:16	0,25	0,17	63100	2060,00	39,10
		15/04/2019 08:36	0,5	0,50	55000	1800,00	41,40
		15/04/2019 09:06	1	1,00	50600	1335,00	
		15/04/2019 10:06	2	2,00	38700	616,00	30,40
		15/04/2019 12:06	4	4,00	30200	291,00	16,90
		15/04/2019 16:06	8	8,00	14800	128,00	9,90
		15/04/2019 20:06	12	12,00	10400	49,50	4,45
		16/04/2019 08:05	24	23,98	2100	1,97	0,28
		16/04/2019 20:05	36	35,98	71,8	1,04	0,08
		17/04/2019 08:06	48	48,00	46,9	0,48	0,13
		18/04/2019 08:06	72	72,00	2,49	0,26	0,13
		19/04/2019 08:06	96	96,00	0,754	0,16	0,00
		20/04/2019 08:06	120	120,00	0,478	0,12	0,00
		22/04/2019 08:06	168	168,00	0,161	0,06	0,00
		24/04/2019 08:06	216	216,00	0,126	0,00	0,00
		26/04/2019 08:06	264	264,00	0,046	0,00	0,00
28/04/2019 08:06	312	312,00	0,0417	0,00	0,00		
30/04/2019 08:06	360	360,00	0,0233	0,00	0,00		

Cheval	Date et heure de l'administration	Date et heure de prélèvement	Temps du prélèvement prévu par le protocole après l'administration (h)	Temps réel du prélèvement après l'administration (h)	Concentration plasmatique en sulfadoxine (ng/mL)	Concentration plasmatique en triméthoprime (ng/mL)	Concentration plasmatique en desméthyltriméthoprime (ng/mL)
Quashmir	15/04/2019 08:12	02/04/2019 08:10	0	0,00	0,00	0,00	0,00
		15/04/2019 08:17	0,08	0,08	98000	4300,00	49,50
		15/04/2019 08:27	0,25	0,25	64500	2040,00	39,40
		15/04/2019 08:42	0,5	0,50	62500	1510,00	42,80
		15/04/2019 09:12	1	1,00	54700	935,00	32,90
		15/04/2019 10:12	2	2,00	46100	449,00	29,30
		15/04/2019 12:12	4	4,00	35200	276,00	19,50
		15/04/2019 16:12	8	8,00	20700	88,70	9,40
		15/04/2019 20:12	12	12,00	10900	31,10	3,75
		16/04/2019 08:12	24	24,00	5130	1,72	0,25
		16/04/2019 19:56	36	35,73	1430	1,16	0,17
		17/04/2019 08:11	48	47,98	261	0,36	0,05
		18/04/2019 08:13	72	72,02	20	0,12	0,05
		19/04/2019 08:12	96	96,00	2,37	0,12	0,00
		20/04/2019 08:12	120	120,00	0,808	0,07	0,00
		22/04/2019 08:13	168	168,02	0,329	0,05	0,00
		24/04/2019 08:12	216	216,00	0,198	0,00	0,00
		26/04/2019 08:12	264	264,00	0,122	0,00	0,00
		28/04/2019 08:12	312	312,00	0,0815	0,00	0,00
30/04/2019 08:12	360	360,00	0,0556	0,00	0,00		
Pitou	15/04/2019 08:17	02/04/2019 08:15	0	0,00	0,00	0,00	0,00
		15/04/2019 08:23	0,08	0,10	58500	2550,00	24,70
		15/04/2019 08:33	0,25	0,27	62600	1630,00	19,30
		15/04/2019 08:47	0,5	0,50	47500	1210,00	24,10
		15/04/2019 09:17	1	1,00	49000	918,00	19,50
		15/04/2019 10:17	2	2,00	35300	683,00	28,60
		15/04/2019 12:17	4	4,00	28300	404,00	25,30
		15/04/2019 16:17	8	8,00	18600	198,00	14,00
		15/04/2019 20:17	12	12,00	11500	73,10	6,72
		16/04/2019 08:17	24	24,00	2960	3,61	0,70
		16/04/2019 20:11	36	35,90	592	1,36	0,14
		17/04/2019 08:19	48	48,03	70,7	0,40	0,06
		18/04/2019 08:18	72	72,02	3,68	0,17	0,00
		19/04/2019 08:19	96	96,03	0,97	0,11	0,00
		20/04/2019 08:17	120	120,00	0,513	0,06	0,00
		22/04/2019 08:17	168	168,00	0,253	0,00	0,00
		24/04/2019 08:17	216	216,00	0,15	0,00	0,00
		26/04/2019 08:19	264	264,03	0,0979	0,00	0,00
		28/04/2019 08:17	312	312,00	0,059	0,00	0,00
30/04/2019 08:19	360	360,03	0,0429	0,00	0,00		

Annexe 2: Prélèvements et résultats urinaires

Cheval	Date et heure de l'administration	Date et heure de prélèvement	Temps du prélèvement prévu par le protocole après l'administration (h)	Temps réel du prélèvement après l'administration (h)	Concentration Urinaire en sulfadoxine (ng/mL)	Concentration urinaire en triméthopime (ng/mL)	Concentration urinaire en desméthyltriméthopime (ng/mL)	Volume d'urine récolté (mL)
Leridano	01/10/2018 08:00	25/09/2018 11:55	0	0,00	0,00	0,00	0,00	950
		01/10/2018 09:00	4	1,00	481000,00	20500,00	72100,00	1020
		01/10/2018 15:57	8	7,95	550000,00	13500,00	192000,00	250
		01/10/2018 18:45	12	10,75	495000,00	13600,00	186000,00	1700
		02/10/2018 11:08	24	27,13	69100,00	130,00	1460,00	1180
		03/10/2018 10:10	48	50,17	2230,00	44,40	427,00	1125
		04/10/2018 10:26	72	74,43	62,20	10,30	53,50	1000
		05/10/2018 09:48	96	97,80	45,60	10,40	58,00	525
		06/10/2018 11:11	120	123,18	11,40	5,43	27,40	1250
		08/10/2018 11:45	168	171,75	4,23	5,73	24,40	950
		10/10/2018 10:05	216	218,08	3,65	2,48	16,40	1050
		13/10/2018 11:30	288	291,50	1,75	2,46	11,10	1425
		16/10/2018 13:00	360	365,00	1,25	1,73	10,10	950
		19/10/2018 11:18	432	435,30	16,90	1,59	5,96	850
		22/10/2018 09:30	504	505,50	14,10	0,67	5,31	800
		26/10/2018 11:14	600	603,23	0,31	1,65	2,37	750
		30/10/2018 09:36	696	697,60	19,80	1,06	6,50	500
		03/11/2018 12:23	792	796,38	0,00	0,56	0,56	1250
		07/11/2018 10:57	888	890,95	13,40	1,68	5,92	950
		11/11/2018 12:50	984	988,83	0,00	0,00	0,34	1100
15/11/2018 10:39	1080	1082,65	0,22	0,00	0,29	750		
20/11/2018 10:19	1200	1202,32	0,00	0,93	0,00	655		
Kepresh	01/10/2018 08:10	25/09/2018 10:39	0	0,00	2,59	0,00	1,73	1470
		01/10/2018 09:12	4	1,03	240000,00	14200,00	40000,00	1055
		01/10/2018 15:55	8	7,75	941000,00	26500,00	517000,00	960
		01/10/2018 18:45	12	10,58	377000,00	6670,00	167000,00	2250
		02/10/2018 09:45	24	25,58	71200,00	119,00	2370,00	1125
		03/10/2018 13:40	48	53,50	1260,00	25,60	257,00	2200
		04/10/2018 10:29	72	74,32	57,10	9,97	69,70	2000
		05/10/2018 13:15	96	101,08	23,30	10,10	62,70	2250
		06/10/2018 11:19	120	123,15	17,20	4,71	35,00	1940
		08/10/2018 10:00	168	169,83	2,31	4,18	17,90	1850
		10/10/2018 10:10	216	218,00	1,44	1,49	12,60	1950
		13/10/2018 11:42	288	291,53	0,67	0,70	5,58	550
		16/10/2018 13:36	360	365,43	2,52	1,69	8,43	1300
		19/10/2018 09:50	432	433,67	0,00	0,93	2,26	1455
		22/10/2018 09:16	504	505,10	0,34	0,00	1,26	1200
		26/10/2018 09:01	600	600,85	0,00	0,99	1,13	1520
		30/10/2018 10:36	696	698,43	0,00	0,44	0,94	1150
		03/11/2018 12:23	792	796,22	0,00	0,00	0,00	2400
		07/11/2018 09:31	888	889,35	0,00	0,00	0,00	1300
		11/11/2018 12:45	984	988,58	0,00	0,00	0,00	1500
15/11/2018 09:31	1080	1081,35	0,00	0,00	0,00	1455		
20/11/2018 10:19	1200	1202,15	0,00	0,80	0,00	850		

Cheval	Date et heure de l'administration	Date et heure de prélèvement	Temps du prélèvement prévu par le protocole après l'administration (h)	Temps réel du prélèvement après l'administration (h)	Concentration Urinaire en sulfadoxine (ng/mL)	Concentration urinaire en triméthoprime (ng/mL)	Concentration urinaire en desméthyltriméthoprime (ng/mL)	Volumed'urine récolté (mL)
Nobel	15/04/2019 08:00	02/04/2019 13:20	0	0,00	0,00	0,00	1,18	1865
		15/04/2019 10:00	4	2,00	458000,00	22600,00	273000,00	1440
		15/04/2019 18:49	8	10,82	736000,00	19300,00	363000,00	1850
		absence de prélèvement	12	-	-	-	-	-
		16/04/2019 08:08	24	24,13	70900,00	215,00	2660,00	670
		17/04/2019 11:45	48	51,75	849,00	absence de détection	312,00	1680
		18/04/2019 10:27	72	74,45	39,60	absence de détection	83,00	1025
		19/04/2019 13:22	96	101,37	17,00	absence de détection	65,60	1825
		20/04/2019 12:34	120	124,57	9,58	12,50	50,80	1450
		22/04/2019 10:10	168	170,17	3,98	9,05	26,70	1410
		24/04/2019 10:16	216	218,27	3,22	4,73	13,90	1250
		26/04/2019 12:55	264	268,92	2,06	3,53	12,20	1445
		28/04/2019 09:30	312	313,50	1,53	3,31	9,92	1275
		30/04/2019 10:05	360	362,08	1,52	3,85	7,72	1100
		04/05/2019 10:51	456	458,85	0,52	1,57	4,37	1250
		08/05/2019 11:08	552	555,13	0,34	1,34	2,89	1680
		12/05/2019 11:23	648	651,38	1,19	1,22	1,54	1350
		17/05/2019 10:52	768	770,87	0,00	0,54	1,46	1325
		22/05/2019 09:53	888	889,88	0,00	0,50	1,32	1125
		27/05/2019 09:45	1008	1009,75	0,25	0,70	1,12	1180
03/06/2019 11:10	1176	1179,17	0,00	0,61	0,76	1450		
10/06/2019 09:45	1344	1345,75	0,00	0,00	0,44	950		
17/06/2019 12:40	1512	1516,67	0,00	0,00	0,00	825		
24/06/2019 11:45	1680	1683,75	0,00	0,00	0,71	2040		
Rêve	15/04/2019 08:06	02/04/2019 13:22	0	0,00	0,00	0,00	0,00	2050
		15/04/2019 13:50	4	5,73	875000,00	35900,00	244000,00	1850
		absence de prélèvement	8	-	-	-	-	-
		15/04/2019 19:48	12	11,70	483000,00	18400,00	172000,00	1950
		16/04/2019 13:19	24	29,22	41400,00	592,00	2870,00	1360
		17/04/2019 11:35	48	51,48	1160,00	92,20	404,00	1750
		18/04/2019 10:18	72	74,20	60,00	44,30	150,00	1180
		19/04/2019 13:31	96	101,42	13,90	28,20	104,00	830
		20/04/2019 12:34	120	124,47	6,65	17,10	57,90	1400
		22/04/2019 13:00	168	172,90	3,55	10,10	34,40	575
		24/04/2019 17:15	216	225,15	4,45	7,24	18,40	2780
		26/04/2019 12:50	264	268,73	2,54	3,94	11,60	1675
		28/04/2019 12:58	312	316,87	27,80	3,68	17,00	1400
		30/04/2019 12:45	360	364,65	1,23	2,56	5,82	1410
		04/05/2019 14:20	456	462,23	0,44	1,92	4,28	450
		08/05/2019 11:39	552	555,55	0,24	1,03	2,45	1790
		12/05/2019 12:06	648	652,00	0,00	0,44	1,02	1925
		17/05/2019 10:42	768	770,60	0,00	0,69	0,82	1125
		22/05/2019 11:50	888	891,73	0,00	2,38	7,13	1800
		27/05/2019 10:59	1008	1010,88	0,00	0,00	0,85	1340
03/06/2019 14:26	1176	1182,33	0,00	0,00	1,83	2275		
10/06/2019 09:45	1344	1345,65	1,56	0,00	0,63	1600		
17/06/2019 13:48	1512	1517,70	0,00	0,00	0,87	2100		
24/06/2019 13:29	1680	1685,38	0,00	0,00	0,53	2350		

Cheval	Date et heure de l'administration	Date et heure de prélèvement	Temps du prélèvement prévu par le protocole après l'administration (h)	Temps réel du prélèvement après l'administration (h)	Concentration Urinaire en sulfadoxine (ng/mL)	Concentration urinaire en triméthopime (ng/mL)	Concentration urinaire en desméthyltriméthopime (ng/mL)	Volume d'urine récolté (mL)	
Quashmir	15/04/2019 08:12	02/04/2019 13:13	0	0,00	0,00	0,00	0,00	2650	
		15/04/2019 14:08	4	5,93	327000,00	19000,00	292000,00	2300	
		absence de prélèvement	8	-	-	-	-	-	-
		absence de prélèvement	12	-	-	-	-	-	-
		16/04/2019 14:34	24	30,37	72600,00	253,00	3940,00	1970	
		17/04/2019 14:16	48	54,07	6130,00	29,70	440,00	2390	
		18/04/2019 15:41	72	79,48	213,00	15,70	147,00	2460	
		19/04/2019 13:38	96	101,43	30,90	12,40	112,00	2070	
		20/04/2019 15:17	120	127,08	8,69	7,48	65,10	2250	
		22/04/2019 11:45	168	171,55	3,94	4,94	29,20	2130	
		24/04/2019 13:36	216	221,40	1,46	2,71	13,50	2400	
		26/04/2019 14:41	264	270,48	1,23	1,42	11,70	2130	
		28/04/2019 14:01	312	317,82	1,02	1,57	8,82	1850	
		30/04/2019 12:39	360	364,45	0,75	1,77	6,17	1750	
		04/05/2019 14:27	456	462,25	0,32	0,79	3,06	2370	
		08/05/2019 11:42	552	555,50	0,20	0,57	1,24	2450	
		12/05/2019 11:20	648	651,13	0,35	1,37	0,87	1750	
		17/05/2019 13:12	768	773,00	0,00	0,16	0,44	2550	
		22/05/2019 14:51	888	894,65	0,00	0,35	0,49	2350	
		27/05/2019 12:38	1008	1012,43	0,00	0,44	0,31	2125	
03/06/2019 12:17	1176	1180,08	0,00	0,00	0,00	2350			
10/06/2019 13:58	1344	1349,77	0,00	0,00	0,00	1600			
17/06/2019 13:48	1512	1517,60	0,00	0,00	0,92	2290			
24/06/2019 11:38	1680	1683,43	0,00	0,00	0,00	2440			
Pitou	15/04/2019 08:17	02/04/2019 10:16	0	0,00	0,00	0,14	0,82	840	
		15/04/2019 10:17	4	2,00	606000,00	22800,00	91100,00	1025	
		15/04/2019 12:03	8	3,77	#####	36800,00	404000,00	410	
		15/04/2019 14:14	12	5,95	absence de détection	absence de détection	absence de détection	450	
		16/04/2019 10:08	24	25,85	56100,00	440,00	5000,00	490	
		17/04/2019 10:24	48	50,12	1200,00	34,20	226,00	1010	
		18/04/2019 08:38	72	72,35	77,30	16,30	91,60	550	
		19/04/2019 08:20	96	96,05	15,40	11,60	45,30	450	
		20/04/2019 09:36	120	121,32	9,03	7,94	30,30	700	
		22/04/2019 10:03	168	169,77	3,53	3,95	15,50	890	
		24/04/2019 10:16	216	217,98	1,83	1,92	6,18	690	
		26/04/2019 11:02	264	266,75	1,74	1,94	6,12	900	
		28/04/2019 09:30	312	313,22	0,98	1,60	3,66	580	
		30/04/2019 09:30	360	361,22	0,58	1,49	2,93	850	
		04/05/2019 09:22	456	457,08	0,32	0,50	1,22	600	
		08/05/2019 09:48	552	553,52	0,43	0,61	1,27	810	
		12/05/2019 10:00	648	649,72	0,00	0,76	0,52	850	
		17/05/2019 10:42	768	770,42	0,25	0,74	0,43	925	
		22/05/2019 09:37	888	889,33	0,00	0,00	0,00	550	
		27/05/2019 09:36	1008	1009,32	0,00	0,75	0,00	550	
03/06/2019 09:39	1176	1177,37	0,00	0,00	0,00	950			
10/06/2019 09:45	1344	1345,47	0,00	0,00	0,00	800			
17/06/2019 09:32	1512	1513,25	0,00	0,00	0,00	880			
24/06/2019 09:09	1680	1680,87	0,00	0,00	0,00	620			

Cheval	Date et heure de l'administration	Date et heure de prélèvement	Temps du prélèvement prévu par le protocole après l'administration (h)	Temps réel du prélèvement après l'administration (h)	Concentration Urinaire en sulfadoxine (ng/mL)	Concentration urinaire en triméthopime (ng/mL)	Concentration urinaire en desméthyltriméthopime (ng/mL)	Volume d'urine récolté (mL)		
Diedo	15/04/2019 08:31	02/04/2019 13:08	0	0,00	0,00	0,35	0,00	1850		
		15/04/2019 12:13	4	3,70	393000,00	15900,00	284000,00	1740		
		15/04/2019 14:20	8	5,82	553000,00	23400,00	681000,00	900		
		15/04/2019 19:02	12	10,52	238000,00	6040,00	216000,00	1300		
		16/04/2019 13:10	24	28,65	41700,00	108,00	1930,00	1500		
		17/04/2019 11:52	48	51,35	926,00	13,10	161,00	1490		
		18/04/2019 10:47	72	74,27	56,40	4,93	49,20	1660		
		19/04/2019 11:31	96	99,00	13,50	4,18	41,30	1400		
		20/04/2019 11:13	120	122,70	8,38	2,07	16,10	1450		
		22/04/2019 13:00	168	172,48	6,36	1,62	10,10	2300		
		24/04/2019 13:36	216	221,08	3,32	0,60	4,22	1675		
		26/04/2019 14:11	264	269,67	2,59	0,50	3,07	2190		
		28/04/2019 12:52	312	316,35	1,27	0,61	2,02	1990		
		30/04/2019 14:04	360	365,55	1,12	0,46	1,54	1740		
		04/05/2019 14:13	456	461,70	1,18	0,00	0,94	1600		
		08/05/2019 10:06	552	553,58	0,56	0,00	0,45	1640		
		12/05/2019 14:12	648	653,68	0,39	0,00	0,23	2325		
		17/05/2019 10:42	768	770,18	0,00	0,00	0,00	1850		
		22/05/2019 09:40	888	889,15	0,00	0,00	0,00	1410		
		27/05/2019 12:31	1008	1012,00	0,00	0,56	0,00	1875		
		03/06/2019 09:35	1176	1177,07	0,00	0,00	0,00	1575		
		absence de prélèvement	1344	-	-	-	-	-		
		absence de prélèvement	1512	-	-	-	-	-		
		absence de prélèvement	1680	-	-	-	-	-		
Phenix	15/04/2019 08:36	02/04/2019 18:44	0	0,00	0,00	0,00	0,00	2800		
		15/04/2019 10:31	4	1,92	165000,00	11100,00	102000,00	2450		
		15/04/2019 16:36	8	8,00	514000,00	11100,00	322000,00	2000		
				absence de prélèvement	12	-	-	-	-	-
		16/04/2019 16:50	24	32,23	75700,00	177,00	4660,00	1940		
		17/04/2019 14:10	48	53,57	13000,00	31,60	708,00	2600		
		18/04/2019 07:31	72	70,92	839,00	9,01	132,00	1600		
		19/04/2019 12:02	96	99,43	40,80	4,40	46,00	1250		
		20/04/2019 11:39	120	123,05	12,70	2,26	20,20	1400		
		22/04/2019 07:09	168	166,55	6,70	1,37	13,10	1550		
		24/04/2019 10:41	216	218,08	1,57	0,32	2,07	2900		
		26/04/2019 14:36	264	270,00	6,17	0,46	4,40	1855		
		28/04/2019 14:15	312	317,65	1,62	0,36	3,03	2300		
		30/04/2019 11:14	360	362,63	2,15	0,36	2,78	1780		
		04/05/2019 10:31	456	457,92	1,08	0,00	1,39	2075		
		08/05/2019 11:29	552	554,88	0,47	0,00	0,48	2025		
		12/05/2019 11:08	648	650,53	0,50	0,00	0,53	2230		
		17/05/2019 13:05	768	772,48	0,41	0,00	0,00	2325		
		22/05/2019 12:08	888	891,53	0,21	0,00	0,00	1640		
		27/05/2019 16:55	1008	1016,32	0,20	0,00	0,00	1620		
		03/06/2019 12:27	1176	1179,85	0,00	0,00	0,00	1250		
10/06/2019 11:34	1344	1346,97	0,00	0,00	6,41	2325				
17/06/2019 11:15	1512	1514,65	0,00	0,00	2,64	2000				
24/06/2019 10:43	1680	1682,12	0,00	0,00	0,91	2400				

Annexe 3: Résultats individuels obtenus avec Pkanalix pour la sulfadoxine dans le plasma

Chevaux	AUCINF_obs (h·ng·mL <sup>-1</sup> )	AUC_%Extrap_obs (%)	AUClast (h·ng·mL <sup>-1</sup> )	Cl_obs (mL·h <sup>-1</sup> )	Clast (ng·mL <sup>-1</sup> )	Cmax (ng·mL <sup>-1</sup> )
Diedo	395371.2753	0.001162	395366.6807	17704.9281	0.04640	73400.0000
Kepresh	393014.3307	0.005647	392992.1376	19079.2025	0.1460	93200.0000
Ieridano	407600.5664	0.003128	407587.8175	15697.7211	0.1260	86400.0000
Nobel	360968.5345	0.0008629	360965.4198	18833.4975	0.03350	96500.0000
Phenix	519783.3493	0.004366	519760.6539	12693.2115	0.1340	79500.0000
Pitou	403828.5017	0.001123	403823.9647	16839.3760	0.04290	62600.0000
Quashmir	501539.1839	0.001240	501532.9663	10768.5704	0.05560	98000.0000
Reve	376604.7503	0.0005719	376602.5966	19650.2035	0.02330	83200.0000

Chevaux	HL_Lambda_z (h)	Lambda_z (h <sup>-1</sup> )	Lambda_z_intercept	MRTINF_obs (h)	MRTlast (h)	No_points_lambda_z
Diedo	68.6370	0.01010	0.5734	8.1584	8.1532	7.0000
Kepresh	105.3637	0.006579	-0.2249	7.3790	7.3559	4.0000
Ieridano	70.1341	0.009883	0.4882	8.1213	8.1102	5.0000
Nobel	64.4459	0.01076	0.2407	6.9472	6.9434	7.0000
Phenix	117.3974	0.005904	0.09656	9.6366	9.6139	6.0000
Pitou	73.3053	0.009456	0.1978	8.2277	8.2226	6.0000
Quashmir	77.5129	0.008942	0.3066	9.2776	9.2718	5.0000
Reve	64.0703	0.01082	0.09358	6.8162	6.8136	7.0000

Chevaux	Rsq	Rsq_adjusted	Tlast (h)	Tmax (h)	Vz_obs (mL)
Diedo	0.9902	0.9882	360.0000	0.08000	1753181.6704
Kepresh	0.8532	0.7799	264.0000	0.08000	2900185.3970
Ieridano	0.9291	0.9055	264.0000	0.08000	1588328.4050
Nobel	0.8900	0.8680	360.0000	0.08000	1751058.4772
Phenix	0.9287	0.9109	360.0000	0.08000	2149831.9001
Pitou	0.9862	0.9828	360.0000	0.2500	1780884.4580
Quashmir	0.9956	0.9942	360.0000	0.08000	1204222.1659
Reve	0.9350	0.9220	360.0000	0.08000	1816344.1776

Annexe 4: Résultats moyens obtenus avec Pkanalix pour la sulfadoxine dans le plasma

	MIN	Q1	MEDIAN	Q3	MAX
<b>AUCINF_obs</b> (h·ng·mL <sup>-1</sup> )	360968.5345	384809.5405	399599.8885	454569.8752	519783.3493
<b>AUC_%Extrap_obs (%)</b>	0.0005719	0.0009932	0.001201	0.003747	0.005647
<b>AUClast</b> (h·ng·mL <sup>-1</sup> )	360965.4198	384797.3671	399595.3227	454560.3919	519760.6539
<b>Cl_obs</b> (mL·h <sup>-1</sup> )	10768.5704	14195.4663	17272.1521	18956.3500	19650.2035
<b>Clast</b> (ng·mL <sup>-1</sup> )	0.02330	0.03820	0.05100	0.1300	0.1460
<b>Cmax</b> (ng·mL <sup>-1</sup> )	62600.0000	76450.0000	84800.0000	94850.0000	98000.0000
<b>HL_Lambda_z (h)</b>	64.0703	66.5414	71.7197	91.4383	117.3974
<b>Lambda_z (h<sup>-1</sup>)</b>	0.005904	0.007760	0.009669	0.01043	0.01082
<b>Lambda_z intercept</b>	-0.2249	0.09507	0.2192	0.3974	0.5734
<b>MRTINF_obs (h)</b>	6.8162	7.1631	8.1399	8.7526	9.6366
<b>MRTlast (h)</b>	6.8136	7.1497	8.1317	8.7472	9.6139
<b>No_points_lambda_z</b>	4.0000	5.0000	6.0000	7.0000	7.0000
<b>Rsqr</b>	0.8532	0.9093	0.9321	0.9882	0.9956
<b>Rsqr adjusted</b>	0.7799	0.8868	0.9164	0.9855	0.9942
<b>Tlast (h)</b>	264.0000	312.0000	360.0000	360.0000	360.0000
<b>Tmax (h)</b>	0.08000	0.08000	0.08000	0.08000	0.2500
<b>Vz_obs (mL)</b>	1204222.1659	1669693.4411	1767033.0642	1983088.0388	2900185.3970

	MEAN	SD	SE	CV	NTOT	NOBS
<b>AUCINF_obs</b> (h·ng·mL <sup>-1</sup> )	419838.8115	58215.2076	20582.1840	13.8661	8.0000	8.0000
<b>AUC_%Extrap_obs (%)</b>	0.002263	0.001890	0.0006682	83.5239	8.0000	8.0000
<b>AUClast</b> (h·ng·mL <sup>-1</sup> )	419829.0296	58211.3717	20580.8278	13.8655	8.0000	8.0000
<b>Cl_obs</b> (mL·h <sup>-1</sup> )	16408.3388	3196.1063	1129.9942	19.4785	8.0000	8.0000
<b>Cmax</b> (ng·mL <sup>-1</sup> )	0.07596	0.05034	0.01780	66.2633	8.0000	8.0000
<b>HL_Lambda_z (h)</b>	84100.0000	12152.4836	4296.5518	14.4500	8.0000	8.0000
<b>Lambda_z (h<sup>-1</sup>)</b>	80.1083	20.0533	7.0899	25.0327	8.0000	8.0000
<b>Lambda_z intercept</b>	0.009055	0.001852	0.0006548	20.4539	8.0000	8.0000
<b>MRTINF_obs (h)</b>	0.2215	0.2491	0.08808	112.4775	8.0000	8.0000
<b>MRTlast (h)</b>	8.0705	1.0183	0.3600	12.6170	8.0000	8.0000
<b>No_points_lambda_z</b>	8.0606	1.0154	0.3590	12.5967	8.0000	8.0000
<b>Rsqr</b>	5.8750	1.1260	0.3981	19.1658	8.0000	8.0000
<b>Rsqr adjusted</b>	0.9385	0.05075	0.01794	5.4080	8.0000	8.0000
<b>Tlast (h)</b>	0.9189	0.07244	0.02561	7.8830	8.0000	8.0000
<b>Tmax (h)</b>	336.0000	44.4394	15.7117	13.2260	8.0000	8.0000
<b>Vz_obs (mL)</b>	0.1012	0.06010	0.02125	59.3621	8.0000	8.0000
	1868004.5814	492916.8486	174272.4231	26.3873	8.0000	8.0000

Annexe 5: Résultats individuels obtenus avec Pkanalix pour le triméthoprime dans le plasma

Chevaux	AUCINF_obs (h·ng·mL <sup>-1</sup> )	AUC_%Extrap_obs (%)	AUClast (h·ng·mL <sup>-1</sup> )	Cl_obs (mL·h <sup>-1</sup> )	Clast (ng·mL <sup>-1</sup> )	Cmax (ng·mL <sup>-1</sup> )
Diedo	2786.5215	0.1027	2783.6605	502045.2990	0.04000	1830.0000
Kepresh	2505.0587	0.02696	2504.3834	599107.7274	0.02000	3110.0000
Leridano	3204.3966	0.2304	3197.0147	399950.4889	0.07000	3190.0000
Nobel	2702.7639	0.2939	2694.8212	503817.5874	0.05500	3860.0000
Phenix	3108.6835	0.06940	3106.5261	424153.8247	0.08000	3320.0000
Pitou	5175.2585	0.04777	5172.7862	263194.5801	0.06000	2550.0000
Quashmir	4145.3890	0.1019	4141.1643	260187.8859	0.05000	4300.0000
Reve	5000.2229	0.07733	4996.3564	295778.8138	0.06000	3410.0000

Chevaux	HL_Lambda_z (h)	Lambda_z (h <sup>-1</sup> )	Lambda_z_intercept	MRTINF_obs (h)	MRTlast (h)	No_points_lambda_z
Diedo	49.5758	0.01398	-1.9885	2.5881	2.4186	3.0000
Kepresh	23.4036	0.02962	-0.3316	2.2969	2.2561	6.0000
Leridano	73.0967	0.009483	-1.6114	3.3998	2.7762	6.0000
Nobel	100.0994	0.006925	-1.8433	3.2372	2.3260	5.0000
Phenix	18.6922	0.03708	0.1047	2.8564	2.7896	3.0000
Pitou	28.5619	0.02427	0.09479	4.4578	4.3829	4.0000
Quashmir	58.5671	0.01184	-1.0772	3.5074	3.2534	5.0000
Reve	44.6678	0.01552	-0.2312	3.7478	3.5708	5.0000

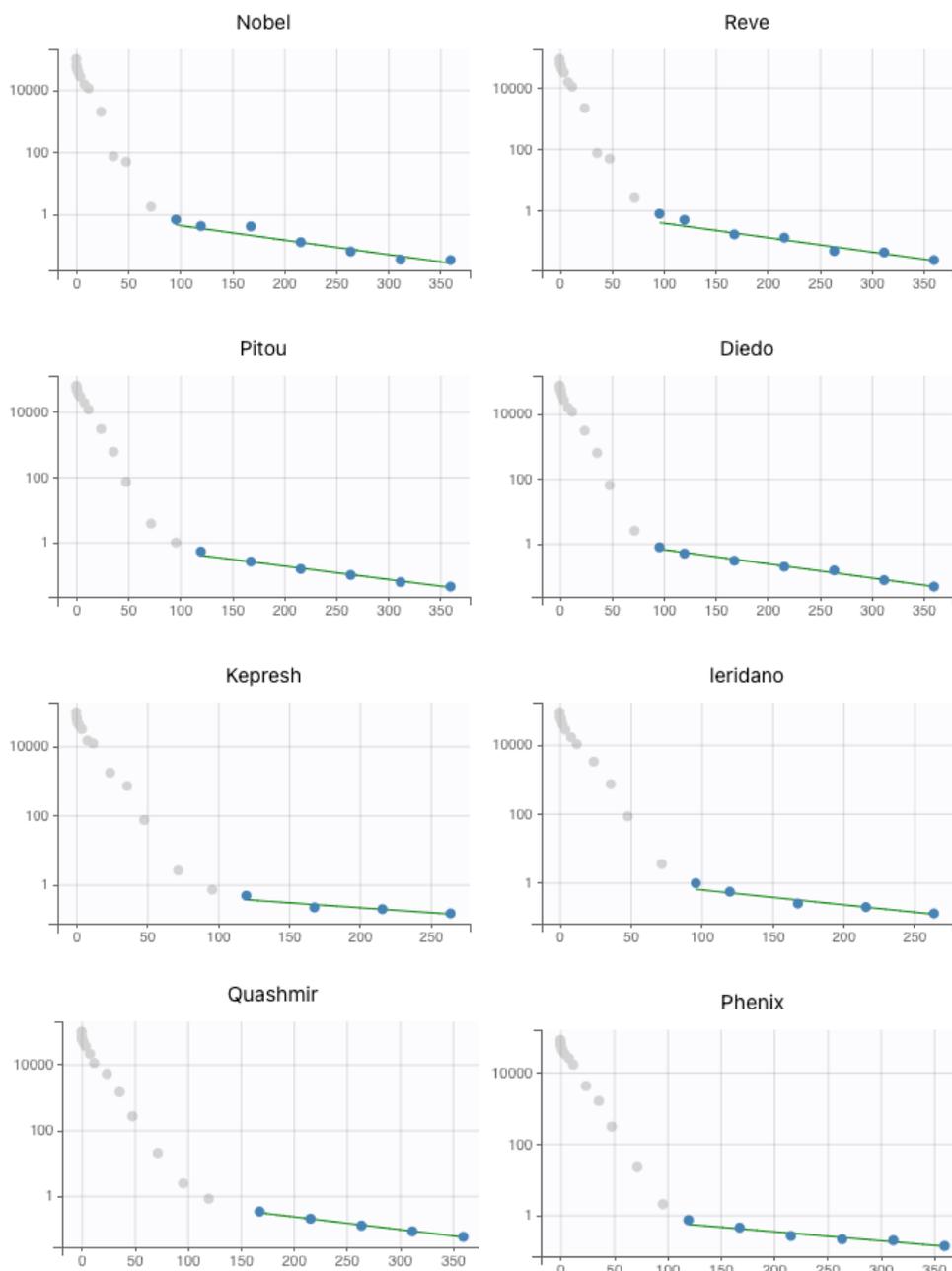
Chevaux	Rsqr	Rsqr_adjusted	Tlast (h)	Tmax (h)	Vz_obs (mL)
Diedo	0.6207	0.2414	96.0000	0.08000	35907685.7160
Kepresh	0.8071	0.7588	120.0000	0.08000	20228428.0462
Leridano	0.3819	0.2273	168.0000	0.08000	42177281.7891
Nobel	0.6037	0.4716	168.0000	0.08000	72757731.8500
Phenix	0.8736	0.7472	72.0000	0.08000	11438192.4004
Pitou	0.9862	0.9792	120.0000	0.08000	10845243.9155
Quashmir	0.8592	0.8123	168.0000	0.08000	21984423.0646
Reve	0.9850	0.9800	168.0000	0.08000	19060584.0594

Annexe 6: Résultats moyens obtenus avec Pkanalix pour le Triméthopime dans le plasma

	MIN	Q1	MEDIAN	Q3	MAX
<b>AUCINF_obs</b> (h·ng·mL <sup>-1</sup> )	2505.0587	2744.6427	3156.5401	4572.8060	5175.2585
<b>AUC_%Extrap_obs</b> (%)	0.02696	0.05859	0.08962	0.1665	0.2939
<b>AUClast</b> (h·ng·mL <sup>-1</sup> )	2504.3834	2739.2409	3151.7704	4568.7603	5172.7862
<b>Cl_obs</b> (mL·h <sup>-1</sup> )	260187.8859	279486.6969	412052.1568	502931.4432	599107.7274
<b>Clast</b> (ng·mL <sup>-1</sup> )	0.02000	0.04500	0.05750	0.06500	0.08000
<b>Cmax</b> (ng·mL <sup>-1</sup> )	1830.0000	2830.0000	3255.0000	3635.0000	4300.0000
<b>HL_Lambda_z</b> (h)	18.6922	25.9828	47.1218	65.8319	100.0994
<b>Lambda_z</b> (h <sup>-1</sup> )	0.006925	0.01066	0.01475	0.02694	0.03708
<b>Lambda_z_intercept</b>	-1.9885	-1.7274	-0.7044	-0.06820	0.1047
<b>MRTINF_obs</b> (h)	2.2969	2.7223	3.3185	3.6276	4.4578
<b>MRTlast</b> (h)	2.2561	2.3723	2.7829	3.4121	4.3829
<b>No_points_lambda_z</b>	3.0000	3.5000	5.0000	5.5000	6.0000
<b>Rsq</b>	0.3819	0.6122	0.8331	0.9293	0.9862
<b>Rsq_adjusted</b>	0.2273	0.3565	0.7530	0.8958	0.9800
<b>Tlast</b> (h)	72.0000	108.0000	144.0000	168.0000	168.0000
<b>Tmax</b> (h)	0.08000	0.08000	0.08000	0.08000	0.08000
<b>Vz_obs</b> (mL)	10845243.9155	15249388.2299	21106425.5554	39042483.7526	72757731.8500

	MEAN	SD	SE	CV	NTOT	NOBS
<b>AUCINF_obs</b> (h·ng·mL <sup>-1</sup> )	3578.5368	1055.5566	373.1956	29.4969	8.0000	8.0000
<b>AUC_%Extrap_obs</b> (%)	0.1188	0.09357	0.03308	78.7705	8.0000	8.0000
<b>AUClast</b> (h·ng·mL <sup>-1</sup> )	3574.5891	1055.8144	373.2868	29.5367	8.0000	8.0000
<b>Cl_obs</b> (mL·h <sup>-1</sup> )	406029.5259	125500.7090	44371.2012	30.9093	8.0000	8.0000
<b>Clast</b> (ng·mL <sup>-1</sup> )	0.05438	0.01841	0.006508	33.8530	8.0000	8.0000
<b>Cmax</b> (ng·mL <sup>-1</sup> )	3196.2500	757.0231	267.6481	23.6847	8.0000	8.0000
<b>HL_Lambda_z</b> (h)	49.5831	27.4933	9.7203	55.4489	8.0000	8.0000
<b>Lambda_z</b> (h <sup>-1</sup> )	0.01859	0.01063	0.003759	57.1910	8.0000	8.0000
<b>Lambda_z_intercept</b>	-0.8605	0.8758	0.3096	-101.7830	8.0000	8.0000
<b>MRTINF_obs</b> (h)	3.2614	0.6862	0.2426	21.0390	8.0000	8.0000
<b>MRTlast</b> (h)	2.9717	0.7306	0.2583	24.5843	8.0000	8.0000
<b>No_points_lambda_z</b>	4.6250	1.1877	0.4199	25.6808	8.0000	8.0000
<b>Rsq</b>	0.7647	0.2116	0.07481	27.6703	8.0000	8.0000
<b>Rsq_adjusted</b>	0.6522	0.3029	0.1071	46.4430	8.0000	8.0000
<b>Tlast</b> (h)	135.0000	38.3518	13.5594	28.4087	8.0000	8.0000
<b>Tmax</b> (h)	0.08000		0	0	8.0000	8.0000
<b>Vz_obs</b> (mL)	29299946.3552	20696235.9228	7317224.3830	70.6357	8.0000	8.0000

Annexe 7: Détermination de la pente terminale ( $\lambda_z$ ) d'élimination de la sulfadoxine dans le plasma pour chacun des chevaux de l'étude avec Pkanalix



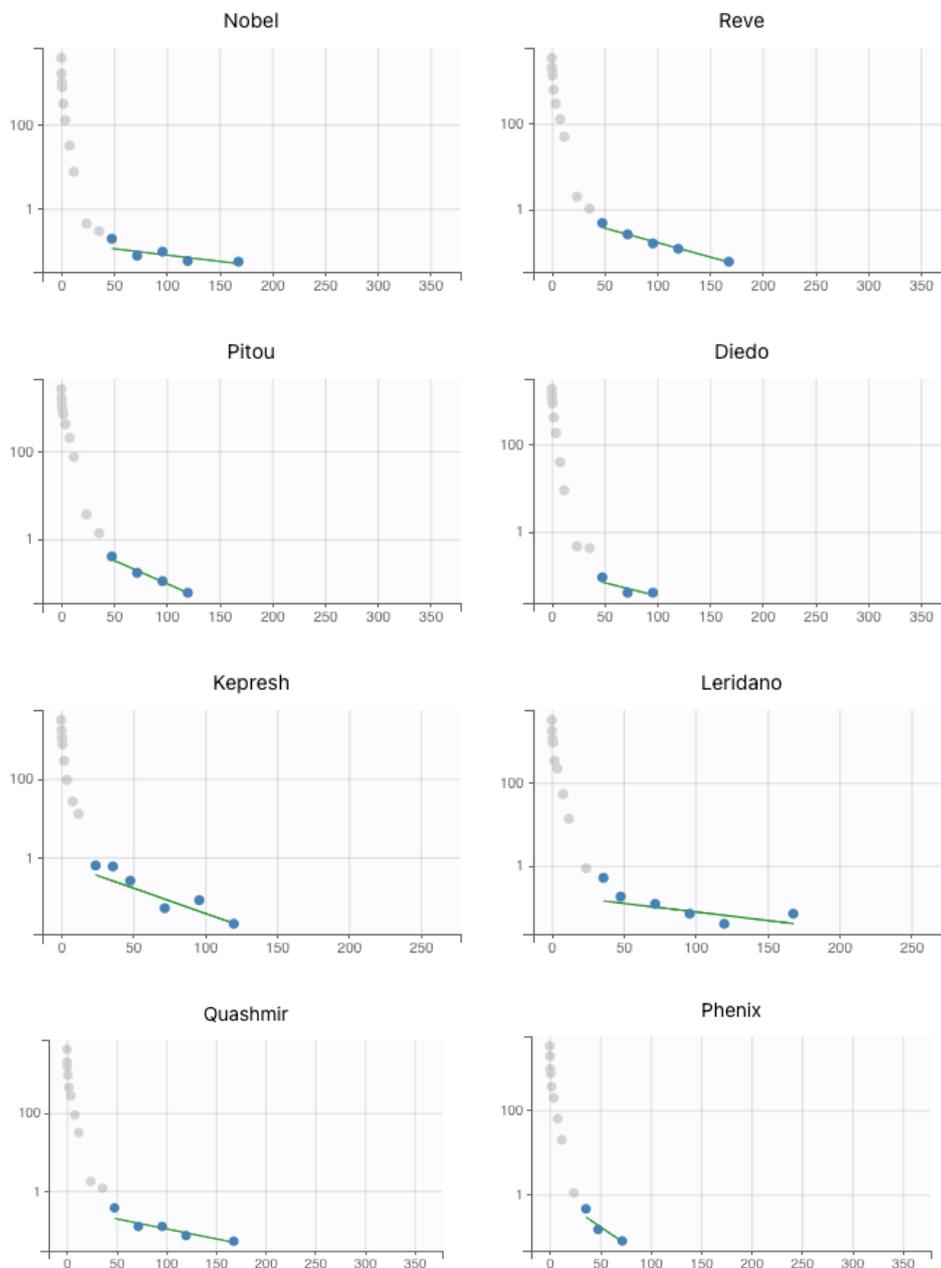
**Légende :**

Axe des abscisses : Temps (h) après l'injection

Axe des ordonnées : Concentration plasmatique en sulfadoxine

Droite verte : Droite de pente  $-\lambda_z$  estimée par le logiciel à partir des points sélectionnés (points bleus)

Annexe 8: Détermination de la pente terminale ( $\lambda_{z}$ ) d'élimination du triméthoprimé dans le plasma pour chacun des chevaux de l'étude avec Pkanalix



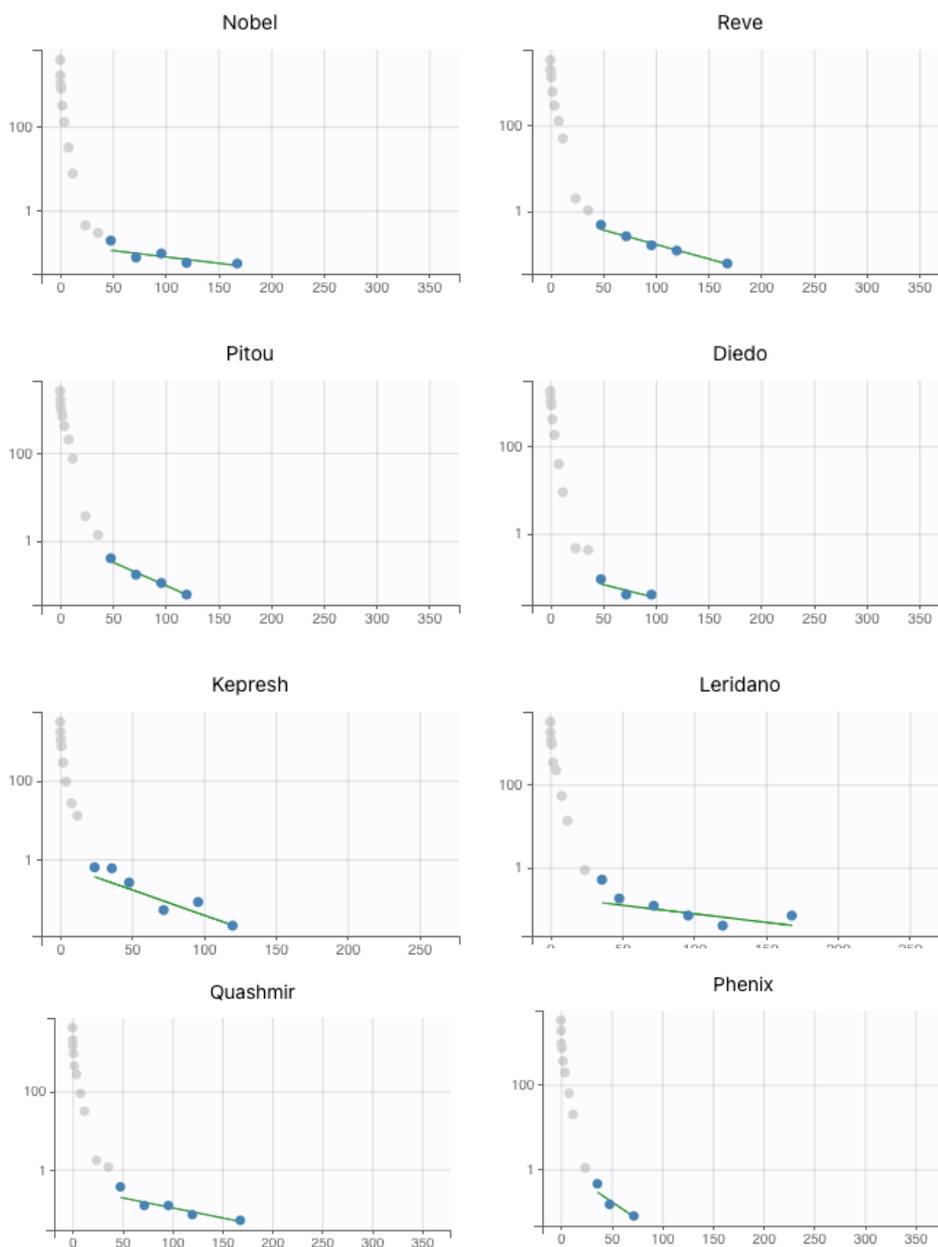
**Légende :**

Axe des abscisses : Temps (h) après l'injection

Axe des ordonnées : Concentration plasmatique en triméthoprimé

Droite verte : Droite de pente  $-\lambda_z$  estimée par le logiciel à partir des points sélectionnés (points bleus)

Annexe 9: Détermination de la pente terminale ( $\lambda_{z}$ ) d'élimination du desméthyltriméthoprimé dans le plasma pour chacun des chevaux de l'étude avec Pkanalix



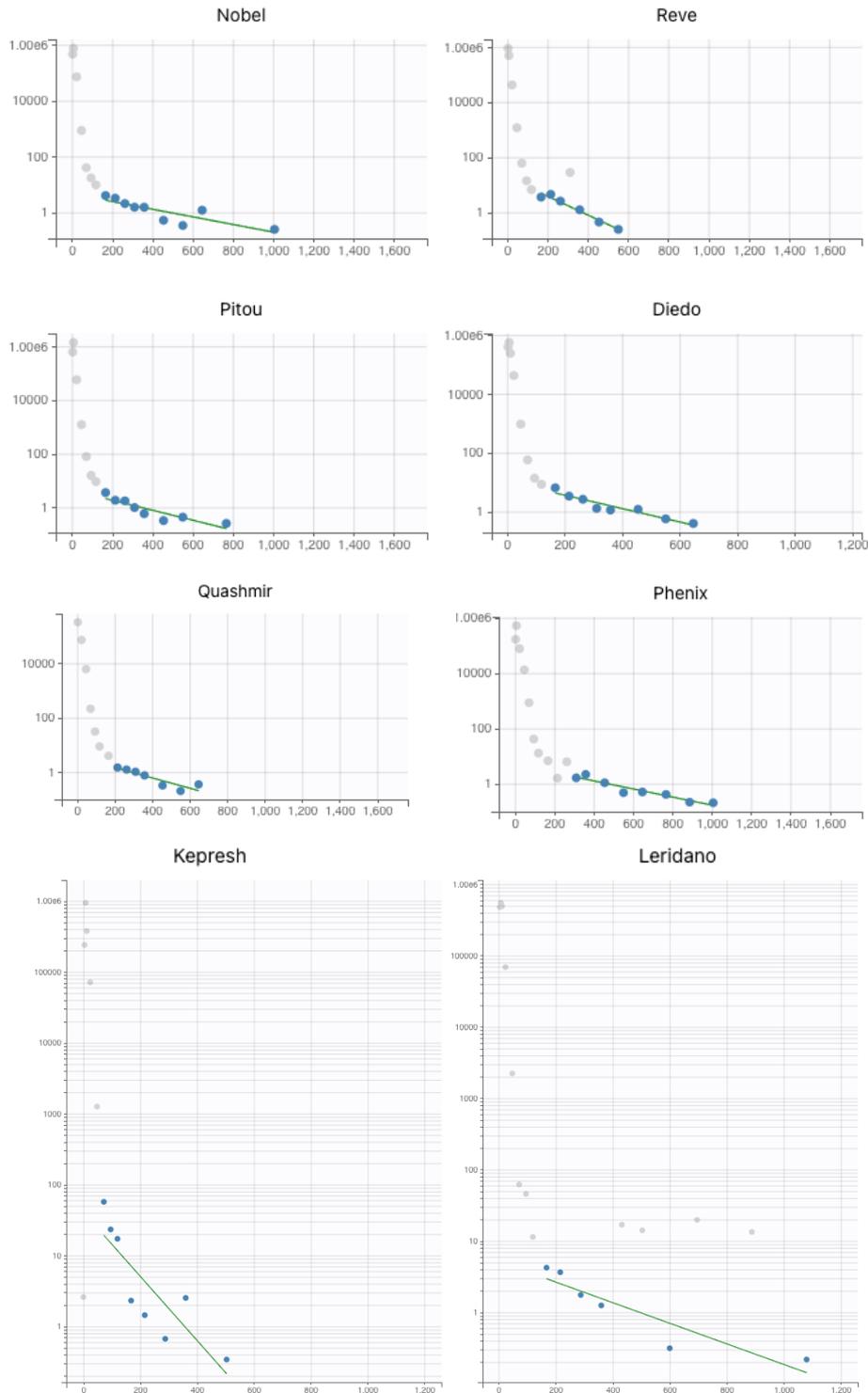
Légende :

Axe des abscisses : Temps (h) après l'injection

Axe des ordonnées : Concentration plasmatique en desméthyltriméthoprimé

Droite verte : Droite de pente  $-\lambda_z$  estimée par le logiciel à partir des points sélectionnés (points bleus)

Annexe 10: Détermination de la pente terminale ( $\lambda_{z}$ ) d'élimination de la sulfadoxine dans les urines pour chacun des chevaux de l'étude avec Pkanalix



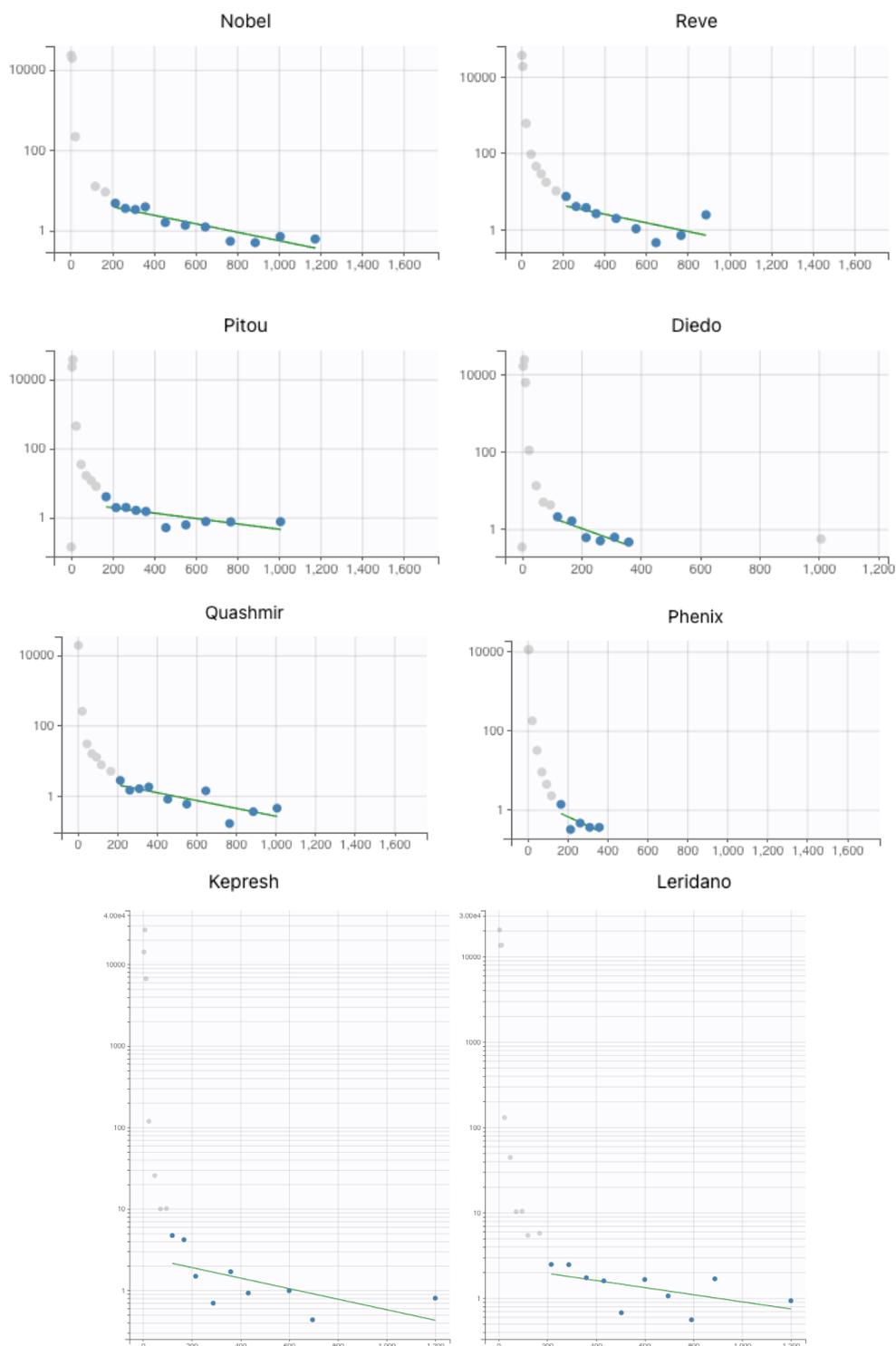
**Légende :**

Axe des abscisses : Temps (h) après l'injection

Axe des ordonnées : Concentration urinaire en sulfadoxine

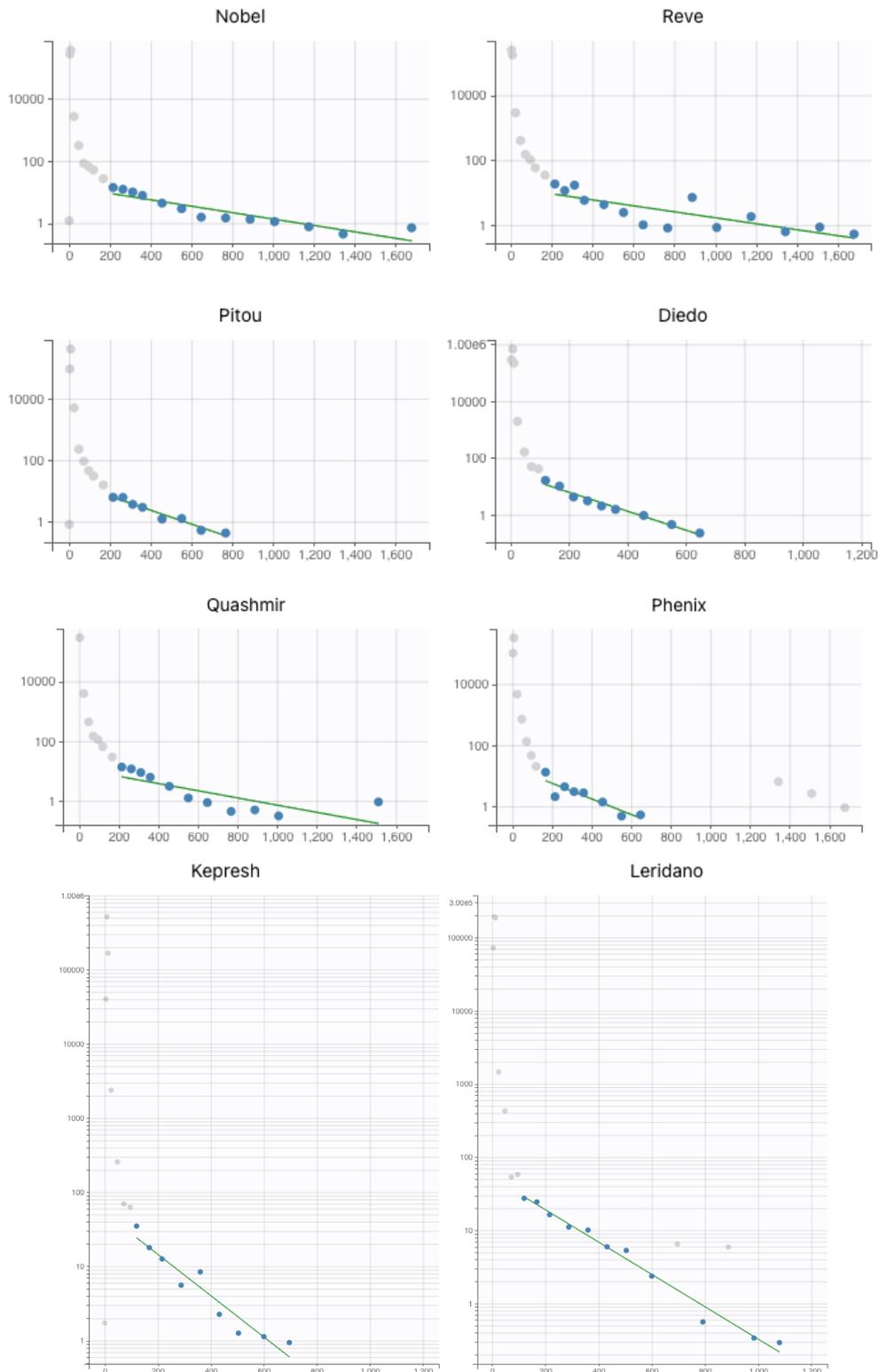
Droite verte : Droite de pente  $-\lambda_z$  estimée par le logiciel à partir des points sélectionnés (points bleus)

Annexe 11: Détermination de la pente terminale ( $\lambda_z$ ) d'élimination de la sulfadoxine dans les urines pour chacun des chevaux de l'étude avec Pkanalix



**Légende :**  
 Axe des abscisses : Temps (h) après l'injection  
 Axe des ordonnées : Concentration urinaire en triméthoprime  
 Droite verte : Droite de pente  $-\lambda_z$  estimée par le logiciel à partir des points sélectionnés (points bleus)

Annexe 12: Détermination de la pente terminale ( $\lambda_{z}$ ) d'élimination du desméthyltriméthoprimé dans les urines pour chacun des chevaux de l'étude avec Pkanalix



**Légende :**

Axe des abscisses : Temps (h) après l'injection

Axe des ordonnées : Concentration urinaire en desméthyltriméthoprimé

Droite verte : Droite de pente  $-\lambda_z$  estimée par le logiciel à partir des points sélectionnés (points bleus)

Toulouse, 2024

NOM : TRIBOULLOY

Prénom : Cyrielle

TITRE : TRIMETHOPRIME ET SULFADOXINE : PHARMACODYNAMIQUE ET PHARMACOCINETIQUE DANS LE CADRE DE LA LUTTE ANTI-DOPAGE CHEZ LE CHEVAL

RÉSUMÉ :

Notre étude s'inscrit dans une approche de contrôle des médications qui est un enjeu important dans le milieu des courses hippiques et des sports équestres. Après une injection unique par voie IV à huit chevaux de triméthoprim à 2,7mg/kg et de sulfadoxine à 13,4mg/kg, les temps de détection du triméthoprim, de son métabolite et de la sulfadoxine dans le plasma étaient respectivement de 216h, 143h et plus de 524h pour une limite de détection de 0,05ng/mL. Les temps de détection dans les urines étaient de 1680h pour le métabolite et de 984h pour les deux antibiotiques pour une limite de détection de 1ng/mL. Un temps de retrait plus court de 102h permettrait d'assurer l'absence d'effet antibactérien des molécules.

Le suivi des concentrations nous a permis d'effectuer les prémices d'une étude d'efficacité de cette association d'antibiotique. Suite à l'administration de triméthoprim et de sulfadoxine chez le cheval, le ratio entre les deux antibiotiques est bien inférieur à la valeur optimale de 1/19 décrite comme synergique in vitro dans la littérature. La comparaison des concentrations plasmatiques aux CMI des pathogènes semble indiquer que, les deux molécules ne sont pas efficaces individuellement. Il faudrait donc mieux caractériser l'interaction entre les deux molécules à différents ratios pour prédire l'efficacité de cette combinaison.

MOTS-CLÉS : Triméthoprim, sulfadoxine, desméthyltriméthoprim, chevaux, dopage, temps de détection, temps de retrait, CMI, ratio

---

TITLE : TRIMETHOPRIM AND SULFADOXINE: PHARMACODYNAMICS AND PHARMACOKINETICS AS PART OF ANTI-DOPING CONTROL IN HORSES

ABSTRACT :

Our study is part of a the medication control approach, which is a significant concern in horseraces and equestrians sports. Following a single intravenous injection to eight horses of trimethoprim at 2.7mg/kg and sulfadoxine at 13.4mg/kg, the detection times for trimethoprim, its metabolite, and sulfadoxine in plasma were 216 hours, 143 hours, and over 524 hours, respectively, for a detection limit of 0.05ng/mL. Detections times in urine were 1680 hours for the metabolite and 984 hours for both antibiotics, for a detection limit of 1ng/mL. A shorter withdrawal time of 102 hours would ensure the absence of antibacterial effects of the molecules.

The concentrations monitoring allowed us to initiate a preliminary study of the efficacy of this antibiotic combination. Following the administration of trimethoprim and sulfadoxine in horses, the ratio between the two antibiotics is significantly lower than the optimal value of 1/19 described as synergistic in vitro in the literature. The study of plasma concentrations in relation to the Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) of pathogens suggests that the two molecules are not effective individually. Therefore, it is necessary to better characterize the interaction between the two molecules at different ratios to predict the efficacy of this combination.

KEY WORDS : Trimethoprim, sulfadoxine, desmethyltrimethoprim, horses, doping, detection time, withdrawal time, MIC, ratio