

EFFET DE LA 2-PYRROLIDONE SUR LES PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES DE L'OXYTETRACYCLINE ADMINISTREE PAR VOIE INTRAVEINEUSE CHEZ LE MOUTON

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement en 2001
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Estève, Sylvain SPERANZA
Né, le 7 décembre 1976 à ROGNAC (Bouches-du-Rhône)

Directeur de thèse : **M. le Docteur Hervé LEFEBVRE**

JURY

PRESIDENT :
M. Georges HOUIN

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
M. Hervé LEFEBVRE
M. Pierre-Louis TOUTAIN

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

MEMBRE INVITE :
M. Pierre FERRE

Docteur vétérinaire

EFFET DE LA 2-PYRROLIDONE SUR LES
PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES DE
L'OXYTETRACYCLINE ADMINISTREE PAR VOIE
6608-2001 1



A NOTRE JURY DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR G. HOUIN

De l'université Paul Sabatier de Toulouse

Pharmacologie et Pharmacocinétique

Qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse,

Hommages respectueux.

MONSIEUR LE DOCTEUR H. LEFEBVRE

Maître de conférences

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Physiologie et Thérapeutique

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse,

Qu'il soit remercié pour la bienveillance et la patience dont il a

fait preuve pour l'élaboration et la correction de ce travail,

Qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance

et de mon plus profond respect.

MONSIEUR LE PROFESSEUR P.L. TOUTAIN

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Physiologie et Thérapeutique

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse,

Sincère reconnaissance.

MONSIEUR LE DOCTEUR P.FERRE

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Physiologie et thérapeutique

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse,

Qu'il soit remercié pour son soutien et sa contribution

à la réalisation de ce travail,

Sincères remerciements.

Nous tenons également à remercier toute l'équipe du service de Physiologie et Thérapeutique, sans qui ce travail n'aurait pu avoir lieu notamment Valérie Laroute, Nathalie Arpaillage, Jean-Pierre Gau, Didier Concordet et Jérôme del Castillo.

A Cindy,

A mon frère Valère,

A mes parents,

A toute ma famille,

A mes amis Coudoucens, Aixois, Marseillais, Toulousains et les autres,

PLAN

ABREVIATIONS ET GLOSSAIRE PHARMACOCINETIQUE	10
TABLES DES ILLUSTRATIONS	14
INTRODUCTION.....	19

PREMIERE PARTIE : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

I. DONNEES GENERALES SUR L'OXYTETRACYCLINE	21
I.1. HISTORIQUE.....	21
I.2. PRINCIPALES PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES.....	24
I.3. MODE D'ACTION, SPECTRE ET RESISTANCES.....	27
I.4. EFFETS INDESIRABLES ET TOXICITE	31
II. LA 2-PYRROLIDONE.....	35
II.1. GENERALITES	35
II.2. LA 2-PYRROLIDONE ET L'OTC LONGUE ACTION	37
II.3. LA 2-PYRROLIDONE ENDOGENE.....	37
III. DONNEES PHARMACOCINETIQUES SUR L'OXYTETRACYCLINE.....	39
III.1. GENERALITES	39
III.2. PHARMACOCINETIQUE DE L'OTC INJECTEE PAR VOIE I.V.....	44
III.3. PHARMACOCINETIQUE DE L'OTC INJECTEE PAR VOIE I.M.	51

DEUXIEME PARTIE : DONNEES EXPERIMENTALES

I. PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS.....	58
II. MATERIELS ET METHODES.....	61
II.1. ETUDE 1 : TOLERANCE AIGUE DE LA 2-PYRROLIDONE	61
II.2. ETUDE 2 : DOSE RESIDUELLE INTRA-CATHETER	61
II.3. ETUDE 3 : DUREE DE LA PERIODE DE «WASHOUT».....	61
II.4. ETUDE 4 : STABILITE DE L'OTC DANS LE SANG TOTAL	61
II.5. ETUDE 5 : EFFETS DE LA 2-PYRROLIDONE SUR LES PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES DE L'OTC INJECTEE PAR VOIE I.V. CHEZ LE MOUTON.....	63
III. RESULTATS.....	69
III.1. ETUDE 1 : TOLERANCE AIGUE DE LA 2-PYRROLIDONE	69
III.2. ETUDE 2 : DOSE RESIDUELLE INTRA-CATHETER	69
III.3. ETUDE 3 : DUREE DE LA PERIODE DE «WASHOUT».....	69
III.4. ETUDE 4 : STABILITE DE L'OTC DANS LE SANG TOTAL	69
III.5. ETUDE 5 : EFFETS DE LA 2-PYRROLIDONE SUR LES PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES DE L'OTC INJECTEE PAR VOIE I.V. CHEZ LE MOUTON.....	73
IV. DISCUSSION.....	77
CONCLUSION	82
BIBLIOGRAPHIE.....	85
ANNEXES	99
SOMMAIRE.....	134

ABREVIATIONS ET GLOSSAIRE PHARMACOCINETIQUE

ABREVIATIONS

Al³⁺	Ion Aluminium
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ANOVA	Analyse de variance multifactorielle (Analysis Of Variance)
ARN_m	Acide RiboNucléique messenger
ARN_t	Acide RiboNucléique de transfert
Ca²⁺	Ion Calcium
cm	Centimètre
CMI	Concentrations Minimales Inhibitrices
CMB	Concentrations Minimales Bactéricides
C_n	Carbone n
cps	Centipoisie
CTC	Chlortétracycline
Cu²⁺	Ion Cuivre
CV	Coefficient de Variation
D	Dalton
DL₅₀	Dose Létale pour 50% des animaux
Fe²⁺	Ion Fer (ferreux)
Fe³⁺	Ion Fer (ferrique)
Formulation L.A.	Formulation « Long-Acting » ou Longue Action
Formulation S.A.	Formulation « Short-Acting » ou Conventionnelle
g	Gramme
h	Heure
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HCl	Chlorhydrate
i.m.	Intramusculaire
i.p.	Intrapéritonéale
i.v.	Intraveineuse
kg	Kilogramme
L	Litre
L.A.	Longue Action
M	Mole
mg	Milligramme

Mg²⁺	Ion Magnésium
min	Minute
mL	Millilitre
mM	Millimole
Mn²⁺	Ion Manganèse
N	Effectif
NaCl	Chlorure de sodium isotonique à 0.9 %
ND	Noms Déposés
nm	Nanomètre
OTC	Oxytétracycline
OTC 10 %	OXYTÉTRACYCLINE 10% VETOQUINOL ND
PD	Pharmacodynamique
pH	Logarithme de la concentration en ion hydrogène
PK	Pharmacocinétique
PVP	PolyVinylPyrrolidone
s.c.	Sous-cutanée
SD	Ecart-type (Standard Deviation)
SI	Standard Interne
Sol. inj.	Solution injectable
TC	Tétracycline
T.L.A.ND	TERRAMYCINE Longue Action ND
Tn	Traitement n
UV	UltraViolet
v.o.	Voie orale
vs	Versus
Zn²⁺	Ion Zinc
2-P	2-Pyrrolidone
30S	30 Svedberg (vitesse de sédimentation)
°C	Degré Celcius
µg	Microgramme
%	Pourcentage
®	Marque déposée (Registered)

GLOSSAIRE PHARMACOCINETIQUE

$$C_t = Y_1 \cdot e^{-\lambda_1 \cdot t} + Y_2 \cdot e^{-\lambda_2 \cdot t} \quad (\text{modèle bi-compartmental ouvert, administration i.v.})$$

C_t ($\mu\text{g/mL}$): Concentration plasmatique au temps t

Y_1 ($\mu\text{g/mL}$): Ordonnée à l'origine (extrapolée) de la phase de distribution

Y_2 ($\mu\text{g/mL}$): Ordonnée à l'origine (extrapolée) de la phase de d'élimination

λ_1 (h^{-1}): Constante de vitesse (pente) de la phase de distribution

λ_2 (h^{-1}): Constante de vitesse (pente) de la phase d'élimination

AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$): Aire sous la courbe du profil des concentrations plasmatiques au cours du temps (Area Under the Curve)

Cl (mL/min/kg): Clairance plasmatique totale

$t_{1/2\lambda_2}$ (h): Temps de demi-vie plasmatique

V_{area} (L/kg): Volume de distribution apparent

V_{ss} (L/kg): Volume de distribution à l'état d'équilibre

F (%): Biodisponibilité

MRT (h): Temps moyen de résidence (Mean Residence Time)

C_{max} ($\mu\text{g/mL}$): Concentration plasmatique maximale

t_{max} (h): Temps correspondant à la concentration plasmatique maximale

TABLES DES ILLUSTRATIONS

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Solutions injectables d'OTC utilisées en médecine vétérinaire en France...25 (d'après 34).....	25
Tableau 2 : Principales propriétés physicochimiques de l'OTC (adapté de 101).....	27
Tableau 3 : Principales propriétés physicochimiques de la 2-P (d'après 23).....	38
Tableau 4 : Principaux paramètres PK (Moyenne ± SD) de différentes formulations S.A. d'OTC administrées par voie i.v. chez des ovins.....	48
Tableau 5 : Principaux paramètres PK (Moyenne ± SD) de différentes formulations S.A. d'OTC administrées par voie i.v. chez des caprins et des bovins.....	49
Tableau 6 : Principaux paramètres PK (Moyenne ± SD) de différentes formulations L.A. d'OTC administrées par voie i.v. chez plusieurs espèces.....	52
Tableau 7 : Comparaison des paramètres PK de l'OTC obtenus après administration par voie i.m. d'une dose de 20 mg/kg de T.L.A.ND ou de TERRAMYCINE 100 Sol. inj. ND chez des bovins et des caprins.....	55
Variation Δ (%) = [(fraction n - fraction 1) / fraction 1] x 100.....	65
Tableau 8 : Concentrations ($\mu\text{g/mL}$) obtenues pour l'OTC 10 % (brebis A) et la T.L.A.ND (brebis B) en fonction du délai de centrifugation et de la température de conservation pour 3 temps de prélèvements.....	73
Tableau 9 : Paramètres PK (Moyenne ± SD) de l'OTC administrée par voie i.v. à 12 brebis (dose de 20 mg/kg) en fonction du traitement.....	78
1 78	
0.42 ± 0.126c.....	78
1.19 ± 0.616a *.....	78
0.53 ± 0.279c.....	78
Tableau 10 : Animaux à l'arrivée : relevé de leur identification, race, poids, âge et des observations complémentaires.....	101
Tableau 11 : Procédé de randomisation (par "alea" sous Microsoft EXCEL ®).....	102
0.144768703.....	102
Tableau 12 : Evolution du poids des brebis au cours des expérimentations.....	103
41 103	
Tableau 13 : Composition des traitements administrés aux brebis à chaque période... 104	
Tableau 14 : Quantités de T.L.A. ND (dose de 20 mg/Kg) administrées aux brebis..... 105	
Tableau 15 : Planning des administrations des différents traitements selon le groupe d'animaux et la période (crossover)..... 106	
Tableau 16 : Variation des concentrations calculées pour les fractions n par rapport aux concentrations obtenues avec la fraction 1 en fonction de la brebis et des temps de prélèvement..... 107	
1440 107	
Tableau 17 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g/mL}$) pour la brebis A en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées..... 108	
15725 108	
Tableau 18 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g/mL}$) pour la brebis B en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées..... 109	

Tableau 19 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pour la brebis C en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées.....	110
Tableau 20 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pour la brebis D en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées.....	111
15964.5	111
Tableau 21 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pour la brebis E en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées.....	112
16269.7	112
Tableau 22 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pour la brebis F en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées.....	113
17244.6	113
Tableau 23 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pour la brebis G en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées.....	114
Tableau 24 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pour la brebis H en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées.....	115
Tableau 25 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pour la brebis M en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées.....	116
18861.3	116
Tableau 26 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pour la brebis J en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées.....	117
1043	117
Tableau 27 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pour la brebis K en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées.....	118
Tableau 28 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pour la brebis L en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées.....	119
Tableau 29 : Concentrations plasmatiques moyennes (\pm SD) des 12 brebis en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) obtenues pour chaque temps de prélèvement et pour chaque traitement d'OTC (20 mg/kg)	124
Tableau 30 : Paramètres PK de l'OTC (analyse non-compartmentale) pour les six premières brebis après administration d'une dose de 20 mg/kg par voie i.v.....	125
Tableau 31 : Paramètres PK de l'OTC (analyse non-compartmentale) pour les six dernières brebis après administration d'une dose de 20 mg/kg par voie i.v.....	126
ANIMAL A : 0.909.....	130
Tableau 1 : Solutions injectables d'OTC utilisées en médecine vétérinaire en France... (d'après 34).....	25
Tableau 2 : Principales propriétés physicochimiques de l'OTC (adapté de 101).....	27
Tableau 3 : Principales propriétés physicochimiques de la 2-P (d'après 23).....	38
Tableau 4 : Principaux paramètres PK (Moyenne \pm SD) de différentes formulations S.A. d'OTC administrées par voie i.v. chez des ovins.....	48

Tableau 5 : Principaux paramètres PK (Moyenne ± SD) de différentes formulations S.A. d'OTC administrées par voie i.v. chez des caprins et des bovins.....	49
Tableau 6 : Principaux paramètres PK (Moyenne ± SD) de différentes formulations L.A. d'OTC administrées par voie i.v. chez plusieurs espèces.....	52
Tableau 7 : Comparaison des paramètres PK de l'OTC obtenus après administration par voie i.m. d'une dose de 20 mg/kg de T.L.A.ND ou de TERRAMYCINE 100 Sol. inj. ND chez des bovins et des caprins.....	55
Variation Δ (%) = [(fraction n - fraction 1) / fraction 1] x 100.....	65
Tableau 8 : Concentrations ($\mu\text{g/mL}$) obtenues pour l'OTC 10 % (brebis A) et la T.L.A.ND (brebis B) en fonction du délai de centrifugation et de la température de conservation pour 3 temps de prélèvements.....	73
Tableau 9 : Paramètres PK (Moyenne ± SD) de l'OTC administrée par voie i.v. à 12 brebis (dose de 20 mg/kg) en fonction du traitement.....	78
1 78	
0.42 ± 0.126c.....	78
1.19 ± 0.616a *.....	78
0.53 ± 0.279c.....	78
Tableau 10 : Animaux à l'arrivée : relevé de leur identification, race, poids, âge et des observations complémentaires.....	101
Tableau 11 : Procédé de randomisation (par "alea" sous Microsoft EXCEL ®).....	102
0.144768703.....	102
Tableau 12 : Evolution du poids des brebis au cours des expérimentations.....	103
41 103	
Tableau 13 : Composition des traitements administrés aux brebis à chaque période... 104	
Tableau 14 : Quantités de T.L.A. ND (dose de 20 mg/Kg) administrées aux brebis..... 105	
Tableau 15 : Planning des administrations des différents traitements selon le groupe d'animaux et la période (crossover)..... 106	
Tableau 16 : Variation des concentrations calculées pour les fractions n par rapport aux concentrations obtenues avec la fraction 1 en fonction de la brebis et des temps de prélèvement..... 107	
1440 107	
Tableau 17 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g/mL}$) pour la brebis A en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées..... 108	
15725 108	
Tableau 18 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g/mL}$) pour la brebis B en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées..... 109	
Tableau 19 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g/mL}$) pour la brebis C en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées..... 110	

Tableau 20 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pour la brebis D en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées.....	111
15964.5	111
Tableau 21 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pour la brebis E en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées.....	112
16269.7	112
Tableau 22 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pour la brebis F en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées.....	113
17244.6	113
Tableau 23 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pour la brebis G en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées.....	114
Tableau 24 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pour la brebis H en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées.....	115
Tableau 25 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pour la brebis M en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées.....	116
18861.3	116
Tableau 26 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pour la brebis J en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées.....	117
1043	117
Tableau 27 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pour la brebis K en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées.....	118
Tableau 28 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pour la brebis L en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées.....	119
Tableau 29 : Concentrations plasmatiques moyennes (\pm SD) des 12 brebis en OTC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) obtenues pour chaque temps de prélèvement et pour chaque traitement d'OTC (20 mg/kg)	124
Tableau 30 : Paramètres PK de l'OTC (analyse non-compartmentale) pour les six premières brebis après administration d'une dose de 20 mg/kg par voie i.v.....	125
Tableau 31 : Paramètres PK de l'OTC (analyse non-compartmentale) pour les six dernières brebis après administration d'une dose de 20 mg/kg par voie i.v.....	126
ANIMAL A : 0.909.....	130

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure chimique de l'OTC.....	27
Figure 2 : Structure chimique de la 2-P.....	38
Figure 3 : Représentation graphique semi-logarithmique des concentrations plasmatiques moyennes d'OTC en fonction du temps obtenues chez 5 moutons adultes après	47
administration par voie i.v d'une dose de 10 mg/kg d'une formulation S.A. d'OTC.....	47
(TERRAMYCINE 100 Sol. inj. ND) (d'après 44).....	47
Figure 4 : Représentation graphique semi-logarithmique des concentrations sériques moyennes d'OTC en fonction du temps obtenues chez 15 bovins de 200 kg environ après administration par voie i.v d'une dose de 20 mg/kg de T.L.A.ND (d'après 35).....	51
Figure 5 : Représentation graphique des concentrations sériques moyennes d'OTC en fonction du temps obtenues chez des bovins de 200 kg (effectif non précisé) après injection par voie i.m. d'une dose de 20 mg/kg de T.L.A.ND ou de TERRAMYCINE 100 Sol. inj. ND (source : 12).....	54
Figure 6 : Représentation graphique semi-logarithmique des concentrations plasmatiques d'OTC obtenues chez la brebis A (OTC 10 %) en fonction du délai de centrifugation et de la température de conservation.....	74
Figure 7 : Représentation graphique semi-logarithmique des concentrations plasmatiques d'OTC obtenues chez la brebis B (T.L.A.ND) en fonction du délai de centrifugation et de la température de conservation.....	74
120	
121	
122	
123	
Figure 1 : Structure chimique de l'OTC.....	27
Figure 2 : Structure chimique de la 2-P.....	38
Figure 3 : Représentation graphique semi-logarithmique des concentrations plasmatiques moyennes d'OTC en fonction du temps obtenues chez 5 moutons adultes après	47
administration par voie i.v d'une dose de 10 mg/kg d'une formulation S.A. d'OTC.....	47
(TERRAMYCINE 100 Sol. inj. ND) (d'après 44).....	47
Figure 4 : Représentation graphique semi-logarithmique des concentrations sériques moyennes d'OTC en fonction du temps obtenues chez 15 bovins de 200 kg environ après administration par voie i.v d'une dose de 20 mg/kg de T.L.A.ND (d'après 35).....	51
Figure 5 : Représentation graphique des concentrations sériques moyennes d'OTC en fonction du temps obtenues chez des bovins de 200 kg (effectif non précisé) après injection par voie i.m. d'une dose de 20 mg/kg de T.L.A.ND ou de TERRAMYCINE 100 Sol. inj. ND (source : 12).....	54
Figure 6 : Représentation graphique semi-logarithmique des concentrations plasmatiques d'OTC obtenues chez la brebis A (OTC 10 %) en fonction du délai de centrifugation et de la température de conservation.....	74
Figure 7 : Représentation graphique semi-logarithmique des concentrations plasmatiques d'OTC obtenues chez la brebis B (T.L.A.ND) en fonction du délai de centrifugation et de la température de conservation.....	74
120	
121	

122
123

INTRODUCTION

Les tétracyclines (TC) ont été parmi les premiers antibiotiques disponibles en clinique possédant un large spectre d'activité. En raison de sa bonne efficacité et de sa faible toxicité, l'oxytétracycline (OTC) est rapidement devenue en médecine vétérinaire un médicament de choix pour traiter un grand nombre d'affections, notamment chez les ruminants.

Pourtant, les formulations initiales (sous forme de poudre soluble ou de complément alimentaire par voie orale (v.o.) ou sous forme de solution injectable (Sol. inj.) essentiellement par voie intramusculaire (i.m.)), nécessitaient des administrations quotidiennes afin d'éviter les échecs thérapeutiques. Dans un contexte d'intensification des modes d'élevage, le nombre important des administrations étaient à l'origine de plusieurs difficultés : des dépenses conséquentes de temps et d'argent, un risque lié à la contention accru (30,35), une mauvaise compliance des éleveurs au traitement (à l'origine d'antibiorésistance (12)), ainsi qu'un stress important des animaux affectant leur résistance physiologique aux maladies (16). C'est pour répondre à ces besoins que les laboratoires PFIZER ont introduit sur le marché du médicament vétérinaire la TERRAMYCINE Longue ActionND (T.L.A.ND), une formulation spéciale permettant d'espacer les injections d'antibiotique tous les trois jours.

Par voie i.m., les paramètres pharmacocinétiques (PK) de l'OTC sont différents selon la formulation utilisée (12,35,43). Cette différence semble être liée à la présence dans la formulation L.A. d'un excipient, la 2-pyrrolidone (2-P), qui permettrait une libération progressive du principe actif à partir du site d'injection (16). Pourtant, dans la mesure où aucune étude ne concerne l'administration d'OTC L.A. par voie i.v. chez le mouton, il semble possible d'envisager la possibilité d'une action directe de la 2-P sur la PK de l'OTC après administration par voie i.v. L'objectif de ce travail de thèse était donc de documenter l'effet potentiel de la 2-P sur la PK de l'OTC administrée par voie i.v. chez des ovins.

Après avoir envisagé les principales données existantes sur l'OTC, sur la 2-P et sur la PK des différentes formulations d'OTC, nous aborderons l'étude proprement dite de l'effet de la 2-P sur les paramètres PK de l'OTC administrée par voie i.v. chez le mouton.

**PREMIERE PARTIE : DONNEES
BIBLIOGRAPHIQUES**

I. DONNEES GENERALES SUR L'OXYTETRACYCLINE

I.1. HISTORIQUE

La découverte de la pénicilline G a motivé à partir de 1939 la recherche systématique de micro-organismes du sol produisant des molécules antibiotiques (37). Suite à l'examen de milliers d'échantillons provenant de différentes parties du monde, Duggar et son équipe identifièrent, en 1944, une nouvelle souche possédant des propriétés antimicrobiennes étendues. Cet organisme fut appelé *Streptomyces aureofaciens*, par référence à la couleur jaune or que prennent ses colonies après quelques jours d'incubation sur gélose. La substance antibiotique ainsi découverte, l'AuréomycineND, fut commercialisée en 1948 (39).

En 1950, une seconde souche de *Streptomyces* productrice de substances antimicrobiennes fut isolée par les laboratoires PFIZER (50). Cet organisme, nommé *Streptomyces rimosus* en raison de son apparence fissurée sur gélose, produisait la TerramycineND, une molécule possédant le même spectre d'activité que l'auréomycine (37). Ce n'est que deux ans plus tard que l'on s'aperçut que les deux antibiotiques possédaient en réalité une structure de base commune, appelée TC, sur laquelle étaient substitués soit un groupement chlore sur le Carbone 7 (C₇) dans le cas de l'auréomycine, soit un groupement hydroxyle sur le C₅ dans le cas de la terramycine (114). Les principes actifs furent renommés respectivement chlortétracycline (CTC) et OTC.

Suite à la mise en évidence de son activité antimicrobienne *in vitro* et de son efficacité lors d'infections expérimentales, l'OTC fut alors rapidement une des molécules les plus utilisées en antibiothérapie (68,74). Depuis cette époque, des TC semi-synthétiques de deuxième génération ont été développées comme la méthacycline en 1965, la doxycycline en 1967 et la minocycline en 1972. Ces dérivés, plus lipophiles, ont permis d'améliorer de façon importante les propriétés PK et pharmacodynamiques (PD) des TC (13,66).

Dans les années 70, les TC furent de moins en moins employées en raison de la mise en évidence de bactéries antibiorésistantes et de l'arrivée sur le marché de nouveaux antibiotiques à large spectre (49). Cependant, dans les années 80, l'émergence de bactéries pathogènes multi-résistantes a redonné un intérêt à cette famille d'antibiotiques et motivé la recherche de nouvelles molécules comme les dactylocyclines, les glycylicyclines et les dérivés 8-méthoxychlortétracycline (26,118).

En médecine vétérinaire, seules la TC, la CTC, l'OTC et la doxycycline sont commercialisées et parmi ces quatre molécules, l'OTC reste de loin la molécule la plus utilisée de nos jours (108). Le tableau 1 présente les Noms Déposés (ND) des diverses solutions injectables d'OTC S.A. (Short-Acting) et L.A. (Long-Acting) utilisées en médecine vétérinaire en France.

Tableau 1 : Solutions injectables d'OTC utilisées en médecine vétérinaire en France
(d'après 34)

Les formulations Short-Acting ont une concentration en OTC de 5 ou 10 g/100 mL et les formulations Long-Acting ont une concentration en OTC de 20 g/100 mL

NOMS DÉPOSÉS	CONCENTRATION EN OTC (g/100mL)	PRINCIPAL EXCIPIENT	LABORATOIRES
OTC Base			
CYCLIVAL 200 L.A.	20	N.P.	Sepval-Sogeval
REMACYCLINE	20	N.P.	Coophavet
TENALINE L.A. Bovins - Porcins	20	N.P.	Ceva santé animale
OTC Chlorhydrate			
CENTROXYCLINE	5	N.P.	Virbac
TENALINE 5 %	5	N.P.	Ceva santé animale
ENGEMYCINE 10 %	10	PVP	Intervet
TERRAMYCINE 100 Solution injectable	10	PVP	Pfizer
OTC Dihydrate			
Oxytétracycline 5 % VETOQUINOL	5	N.P.	Vétoquinol
TERRAMYCINE 50 Solution injectable	5	PVP	Pfizer
Oxytétracycline 10 % VETOQUINOL	10	PVP (122)	Vétoquinol
BIAMYCINE 20 % E.R.	20	N.P.	Biové
CYCLOSOL 200 L.A.	20	N.P.	Virbac
DUPHACYCLINE L.A.	20	N.P.	Fort Dodge
DURACYKLINE	20	N.P.	Bayer
LONGICINE	20	N.P.	Vétoquinol
OXYLON 20	20	N.P.	Noé-Socopharm
PULMOZAN L.A.	20	N.P.	Zootech
TERRAMYCINE Longue Action (T.L.A.)	20	2-Pyrrolidone (2,30)	Pfizer
TERRALON 20 % L.A.	20	N-Méthyl Pyrrolidone	Virbac

N.P. : Non Précisé
PVP : Poly Vinyl Pyrrolidone
L.A. : Longue Action
E.R. : Effet Retard

I.2. PRINCIPALES PROPRIETES PHYSICOCHEMIQUES

Les TC possèdent une structure chimique commune composée de quatre cycles hexacarbonés fusionnés en ligne (noyau naphtacène-carboxamide). Sur cette structure de base, des radicaux viennent se substituer pour former la TC. Les autres dérivés de la famille sont substitués en position 2', 5, 6 ou 7 (101).

L'OTC, présentée sur la figure 1, possède un groupe polaire hydroxyle comme substituant sur le carbone C₅ d'où son nom chimique simplifié de 5-hydroxytétracycline (27). Ce groupement polaire supplémentaire modifie les propriétés physicochimiques de la molécule en augmentant son hydrosolubilité par rapport à la CTC (26). Cette caractéristique est vérifiée par la valeur peu élevée du coefficient de partage (qui exprime la liposolubilité en valeur relative à l'hydrosolubilité) (tableau 2). Cette modification de la liposolubilité conditionne les propriétés PK (diminution de la biodisponibilité et du volume de distribution, augmentation de la clairance, diminution de la diffusion à travers les enveloppes bactériennes) et PD (diminution de l'affinité pour le récepteur ribosomal) de l'OTC (cf. infra). D'autre part, l'adjonction de groupements oxygénés augmente les possibilités d'oxydation de la molécule, réduisant ainsi la stabilité de la solution à quelques jours seulement en l'absence d'utilisation de conservateurs (101).

Comme toutes les TC, l'OTC est une molécule amphotère pouvant former des sels avec des acides ou des bases (112). Cette propriété permet d'améliorer de façon importante leur hydrosolubilité en vue d'administrations par voie i.v. (101).

Elle peut également former des chélates avec des cations (tels que Al³⁺, Ca²⁺, Cu²⁺, Fe²⁺, Fe³⁺, Mn²⁺ ou Zn²⁺) ce qui risque de diminuer l'absorption digestive ou d'entraîner la formation de précipités insolubles avec des solutés pour perfusion (101). Cette affinité est particulièrement élevée pour les ions fer et elle est de façon générale augmentée pour les cations trivalents (5). Les ions ferriques sont d'ailleurs considérés comme les cations ayant la plus grande affinité pour former des chélates avec l'OTC *in vitro* (91). Cette propriété présente des avantages car elle est utilisée d'une part pour augmenter le rendement de biosynthèse des TC dans les cuves de fermentation et d'autre part pour stabiliser certaines formulations (37).

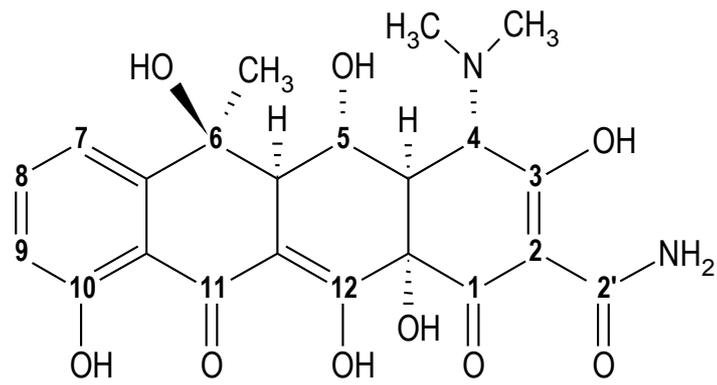


Figure 1 : Structure chimique de l'OTC

Tableau 2 : Principales propriétés physicochimiques de l'OTC (adapté de 101)

L'OTC est susceptible d'être dégradée par différents mécanismes n'impliquant pas de biotransformations chez l'animal. En présence de bases fortes, elle conduit à la formation d'acide terracinoïque. En présence d'acides forts, il y a mise en place d'un pont lactone (éther intramoléculaire) ; le résultat de cette réaction est l'obtention d'apo-OTC ; enfin, il peut y avoir épimérisation au niveau du C₄ (changement de configuration spatiale de la fonction diméthylamine) avec formation d'épi-OTC. La réaction d'épimérisation a lieu spontanément en solution (77), plus précisément pour un pH compris entre 2 et 6 (71). Cependant, elle semble avoir lieu *in vivo* et non pendant le traitement ou la conservation (à une température inférieure ou égale à - 15°C) des échantillons (33). L'atteinte de l'équilibre de cette réaction se caractérise par un changement de l'activité optique (faculté de faire tourner la lumière polarisée) dans les ultraviolets (UV) à 255 nm (2) et une diminution de l'activité antibiotique de l'épimère (seulement de 2-5 % de la molécule mère) (69). Une étude a comparé les

Formule brute	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₉ , HCl
Nom chimique	4-(diméthylamino)-1, 4, 4a, 5, 5a, 6, 11, 12a-octahydro-3, 5, 6, 10, 12, 12a-hexahydroxy-6-méthyl-1, 11-dioxo-2-naphthacénecarboxamide
Poids moléculaire (D)	496.9
Température de fusion (°C)	181 - 182
Propriétés organoleptiques	poudre cristalline de couleur jaune, sans odeur, de saveur amère
Coefficient de partage (dans l'octanol - 0.01 M de tampon phosphate, pH=6.6 et 0.5 mM d'OTC)	0.087
Solubilité (mg/mL)	
- eau	0.5
- éthanol	0.02
- chloroforme	insoluble
pH (en solution aqueuse)	2.3 - 2.9
Conditions de conservation	à l'abri de l'air et de la lumière

Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de l'OTC et de l'épi-OTC pour plusieurs souches bactériennes ; celles-ci ont été beaucoup plus élevées pour l'épimère (de 4 à 40 fois plus). A

titre d'exemples, respectivement pour l'OTC et son épimère, les CMI (exprimées en µg/mL) ont été de 0.6 et 6 pour *S. aureus* 5, 0.07 et 3 pour *S. pyogenes*, 1.1 et 12 pour *E. coli*, 2.9 et 25 pour *A. aerogenes*, 3.1 et 12 pour *S. typhosa*, 2.5 et 12 pour *K. pneumoniae*. Les CMI ont par contre été supérieures à 100 µg/mL pour les deux molécules en ce qui concerne les souches de *S. aureus* résistantes aux TC (17).

Plusieurs méthodes ont été proposées pour le dosage de l'OTC dans les préparations pharmaceutiques ou les différentes matrices biologiques. La méthode officielle consiste à quantifier la concentration en OTC présente dans un échantillon à partir de l'inhibition de croissance bactérienne sur milieu gélosé qu'elle produit. Pour cela, cette méthode microbiologique compare le diamètre d'inhibition de croissance d'une bactérie standard (souvent *Bacillus cereus*, tableaux 4, 5, 6) obtenu avec l'échantillon à doser, avec une série de diamètres d'inhibition produits par des concentrations d'antibiotiques connues. Ceci permet d'obtenir une courbe de calibration. La durée et la température d'incubation, la composition du milieu ainsi que l'environnement gazeux ont été préalablement standardisés. Cette méthode présente plusieurs inconvénients : elle est laborieuse, elle manque de sensibilité et de spécificité, enfin, les produits dégradés (qui possèdent encore une faible activité antibiotique, cf. supra) ne sont pas différenciés de la molécule mère et ils contribuent au résultat final. D'autres méthodes de dosage comme l'HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ont ainsi été mises au point. La détection peut se faire dans le spectre UV, par fluorescence, par spectrométrie de masse ou encore par électrochimie (ampérométrie) (69). La détection par UV se fait le plus souvent à 365 nm (tableaux 4, 5, 6) bien que l'absorbance semble meilleure pour une détection à 250 nm (98). Enfin, l'utilisation d'un standard interne (SI) donne des résultats beaucoup plus précis en permettant de quantifier les variations dues à l'extraction ou au traitement de l'échantillon (77).

I.3. MODE D'ACTION, SPECTRE ET RESISTANCES

L'efficacité de l'OTC dépend comme tous les antibiotiques à la fois de son affinité pour sa structure cible et de son aptitude à franchir les barrières biologiques. Dans le cas des bactéries à Gram négatif, le premier obstacle à surmonter est la paroi. Il semblerait que l'OTC, peu liposoluble, pénètre facilement dans l'espace périplasmique sous forme complexée avec un cation Mg^{2+} à travers des protéines transmembranaires appelées porines (26). Le passage à travers la membrane cytoplasmique se ferait à la fois par diffusion passive et par un transport actif dépendant du gradient de pH (27,68).

Bien que l'OTC (et plus généralement les TC) soit utilisée de façon importante depuis les années 50, les mécanismes responsables de son action inhibitrice ne sont pas entièrement connus. Cependant, il semble établi qu'une fois dans le cytoplasme, elle inhibe la synthèse protéique en se fixant sur sa structure cible, un site localisé sur la sous-unité 30S des ribosomes pour lequel elle présente une grande affinité (27). Elle perturbe ainsi l'interaction codon-anticodon entre l'ARN_t et l'ARN_m ce qui bloque la phase d'élongation, c'est-à-dire l'attachement du complexe ARN_t-Acide Aminé au site unique du ribosome (26). L'OTC agit donc au stade de la traduction protéique.

La fixation de l'OTC sur sa cible est réversible ce qui pourrait expliquer en partie son caractère uniquement bactériostatique (inhibition de la multiplication bactérienne). Cette propriété est vérifiée par la valeur élevée (supérieure à 10) du rapport Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) sur Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI). Cependant, lors d'associations synergiques avec l'érythromycine ou pour des concentrations plus élevées en antibiotique et/ou des souches plus sensibles, son action devient bactéricide (101,108,112). La valeur des CMI, comprise entre 0.5 et 1 µg/mL pour la majorité des bactéries pathogènes (18,35,43,81,93,110,121,126,127), est supérieure pour l'OTC par rapport aux autres dérivés de sa famille. Ceci est dû à la présence sur le noyau TC du groupe hydroxyle qui diminue la liposolubilité de la molécule et dans le même sens son activité biologique (29). Son action antimicrobienne est maximale pour un pH compris entre 5.5 et 6 (74) et elle est analogue à celle des antibiotiques dits temps-dépendants car le taux de mortalité bactérienne est légèrement supérieur au taux de croissance (125).

L'OTC possède un large spectre d'activité anti-infectieuse comprenant des bactéries Gram positif (staphylocoques, streptocoques, *Corynebacterium*), des bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pasteurella*, *Klebsellia*, *Proteus*, *Salmonella*, *Brucella*), des aérobies et des anaérobies, des organismes intracellulaires (*Mycoplasma*, *Chlamydia*, *Rickettsia*) ou spiralés (*Leptospira*, *Borrelia*), ainsi que des protozoaires (*Anaplasma*, *Theileria*) (34,101,105,108). Elle n'est par contre pas active sur les levures, moisissures et autres champignons (18).

L'association entre l'étendue du spectre d'action et l'existence de plusieurs voies d'administration (v.o. ou voies parentérales) fait de l'OTC un antibactérien de choix dans de

très nombreuses affections (aussi bien trachéo-broncho-pulmonaires qu'uro-génitales ou cutanées) rencontrées en médecine vétérinaire (124).

Cette molécule est en particulier indiquée dans la prévention de la chlamydiose ovine. L'efficacité de l'OTC est connue depuis 1977 mais son rythme d'administrations était trop contraignant pour lui permettre d'être utilisée en pratique dans le contrôle de la maladie. L'arrivée sur le marché de la T.L.A.ND a donc permis de reconsidérer son emploi. Dans plusieurs élevages où se présentaient des avortements à *Chlamydia* confirmés par le laboratoire, des essais de traitement par des formulations « Short-Acting » (S.A.) et « Long-Acting » (L.A.) d'OTC ont montré une importante réduction du nombre d'avortements ainsi que l'obtention d'agneaux vigoureux. Sur six élevages étudiés (soit un total de 1765 brebis), on constatait avant traitement plus de 60 % d'avortements alors qu'après traitement (une injection pour la formulation L.A. et deux injections à 24 heures d'intervalle pour la formulation S.A., par voie i.m.), ce pourcentage était en dessous de 1 % (67). Dans le cas d'enzootie à *Chlamydia* dans des élevages de brebis, la prévalence des avortements peut être sensiblement réduite (passant de 1.9 % à 0.3 %, moyennes effectuées sur trois élevages) suite à l'administration prophylactique par voie i.m. profonde de deux doses d'OTC L.A. à trois semaines d'intervalle en administrant la première dose six à huit semaines avant la date prévue d'agnelage (53). Une autre étude menée sur 38 brebis propose de faire la première administration d'OTC L.A. trois semaines avant la date prévue d'agnelage et la seconde administration trois semaines après (4). Dans tous les cas, ces traitements ne remplacent pas la vaccination. Ils ne permettent pas d'éradiquer l'infection ni même de supprimer totalement les avortements mais leur utilisation est justifiée en tant que traitements d'urgence à court terme.

Chez le mouton, l'OTC est également employée spécifiquement sous forme d'aérosol, associée à un colorant marqueur (comme le violet de gentiane), dans le traitement du piétin à *Fusobacterium necrophorum* (« foot rot »), du piétin bénin à *Bacteroides nodosus* (« scald ») et des autres infections superficielles (40). Une étude rassemblant 186 moutons atteints de piétin provenant de sept exploitations différentes a été menée. Les animaux ont été divisés en trois groupes homogènes et ont tous subi un parage des pieds (60). Le premier groupe a été traité avec un produit test (un aérosol d'une nouvelle formulation d'OTC), le deuxième a été traité avec le produit de référence (un aérosol à base d'OTC déjà commercialisé) alors que le troisième groupe n'a reçu aucun traitement. Après deux semaines, une guérison de plus de 60

% des animaux traités a été obtenue pour les deux formulations contre seulement 34 % pour les animaux non traités.

L'OTC est utilisée pour le traitement des pneumopathies dues à des mycoplasmes ou des pasteurelles. Comme chez les bovins, ces pneumopathies sont, chez le mouton, souvent liées au stress ou fièvre des transports (« shipping-fever »). Au cours d'une étude, 30 agneaux sains âgés de trois mois ont été divisés en trois groupes de taille identique (52). Le premier groupe a été traité avec une formulation d'OTC Longue Action (L.A.) 24 heures avant la contamination par *Pasteurella haemolytica*, le deuxième a reçu le même traitement 24 heures après contamination et le troisième groupe a servi de contrôle (animaux non traités). Le traitement prophylactique a seulement retardé de quatre jours l'apparition des signes cliniques de pneumonie (la moitié des agneaux sont alors morts entre le cinquième et le sixième jour après contamination) contrairement au traitement après contamination qui a permis une guérison rapide de la majorité des animaux. A l'autopsie, les lésions pulmonaires étaient moins importantes pour les animaux du deuxième groupe par rapport aux animaux non traités. Pour prévenir le développement de la pasteurellose chez l'agneau déjà infecté, l'OTC peut aussi être utilisée en traitement métaphylactique sous forme de deux injections de la formulation L.A. à quatre jours d'intervalle (51).

La contamination des agneaux par *Ehrlichia phagocytophila* (responsable de l'ehrlichiose, « tick-borne fever ») peut être évitée pendant trois semaines grâce à une seule injection par voie i.m. de 2 mL d'OTC L.A. En thérapie, une injection d'OTC L.A. réduit la mortalité des agneaux infectés (de 7.5 % à 2 % environ) et favorise leur prise de poids (trois fois plus) par rapport à des agneaux non traités (21).

Une étude documente le traitement de l'orchite chez le bélier (n=4) et indique que des concentrations thérapeutiques supérieures à 0.5 µg/mL sont maintenues dans le sperme pendant plus de 10 h après administration par voie i.m. d'une dose de 10 mg/kg d'une formulation S.A. (63).

Les kératoconjunctivites infectieuses (« pinkeye ») peuvent être traitées par deux administrations par voie i.m. à trois jours d'intervalle d'OTC L.A. (105) ou une seule injection d'OTC L.A. par voie sous-conjonctivale (40).

Enfin, on préconise pour le traitement de la cowdriose ovine (« heartwater »), pathologie africaine causée par une rickettsie *Cowdria ruminantium*, des administrations répétées d'OTC S.A. par voie i.v. à 12 heures d'intervalle pendant deux jours (105).

L'OTC est donc une molécule fréquemment utilisée en thérapeutique chez les ovins. Son emploi se justifie souvent pour des infections spécifiques dues à des micro-organismes couramment insensibles aux autres antibiotiques comme les germes intracellulaires (*Chlamydia*, *Rickettsia*), dépourvus de paroi (*Mycoplasma*) ou spiralés (*Leptospira*) (101).

Les posologies recommandées chez les ruminants sont, pour la formulation S.A., des doses quotidiennes allant de 5 mg/kg (pour les adultes) à 10 mg/kg (pour les jeunes) pendant trois à quatre jours essentiellement par voies i.v. lente ou i.m. Les voies sous-cutanée (s.c.) et intrapéritonéale (i.p.) sont également possibles en fonction des AMM dont disposent les différentes formulations commercialisées. Pour la formulation L.A., on recommande d'administrer une dose de 20 mg/kg par voie i.m. profonde. Cependant, dans le cas d'infections nécessitant une antibiothérapie prolongée, l'injection peut être renouvelée trois à cinq jours après la première (34).

Suite à la pression de sélection exercée par l'utilisation systématique de ces antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire, les résistances aux TC sont maintenant répandues et concernent indistinctement les espèces bactériennes appartenant à leur spectre d'activité. Dans la grande majorité des cas, cette évolution est due à l'acquisition de déterminants génétiques par une population bactérienne préalablement sensible. Ces facteurs de résistance se transmettent au sein d'une même population bactérienne ou d'espèce à espèce via les plasmides ou les transposons (26).

Les trois principaux mécanismes de résistance bactérienne décrits sont une diminution de la concentration intracellulaire en OTC par une diminution de leur pénétration ou l'induction d'un système permettant de les excréter, une inactivation de l'OTC par des réactions d'oxydoréduction, ou une diminution de l'accès de l'antibiotique à sa cible par la présence de protéines cytoplasmiques de protection des ribosomes (26,68). Un dernier mécanisme non spécifique correspond à une diminution de l'expression des porines qui conduit à une imperméabilité de la bactérie vis-à-vis des TC et d'autres antibiotiques (37). Pour les TC, le mécanisme de résistance le plus efficace repose sur un système d'efflux de l'antibiotique alors

que le mécanisme le plus souvent rencontré semble être le système de protection ribosomiale (113). D'un point de vue terminologique, tous les systèmes de résistance sont nommés Tet (pour TC) suivi d'une lettre (allant de A à Z) ou d'un chiffre (à partir de 30), et sont codés par des gènes *tet* (76).

Les germes classiquement résistants aux TC sont *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* et autres Enterobacteriaceae, des *Mycobacterium* ainsi que certains mycoplasmes comme *Mycoplasma bovis* (105). Selon le guide du National Committee for Clinical Laboratory Standards, les souches bactériennes sont dites « résistantes » si leur CMI est supérieure ou égale à 16 µg/mL (37).

I.4. EFFETS INDESIRABLES ET TOXICITE

D'un point de vue pharmacologique, les TC sont considérées comme des médicaments possédant un index thérapeutique élevé. Ainsi, malgré leur utilisation très répandue, les publications au sujet de leur toxicité et de leurs effets indésirables restent rares (75).

D'une manière générale, les effets indésirables de l'OTC peuvent être attribués à sa nature irritante (vomissements après administration par v.o. ou nécrose tissulaire au point d'injection), aux altérations provoquées de la flore digestive (responsables d'entérites mortelles chez les chevaux), à sa possibilité de liaison au calcium et à sa toxicité rénale et hépatique (105).

Une coloration anormale des dents peut apparaître lorsque l'OTC est administrée durant la grossesse au moment où les dents sont en développement ou lorsque l'administration a lieu durant le premier mois suivant la mise-bas. Cette coloration est due à un dépôt de l'antibiotique suite à une chélation avec le calcium (108).

L'administration de l'OTC par voie i.v. trop rapide (sous forme de bolus) peut être à l'origine d'un collapsus cardiaque aigu, résultant probablement à la fois de sa liaison avec le calcium et de la très forte concentration sanguine initiale en principe actif. Le propylène glycol (56,57), le N,N-diméthylacétamide (105) et la PolyVinylPyrrolidone (PVP) (56,108) peuvent également, en tant qu'excipients, être responsables d'effets cardio-vasculaires indésirables. Le propylène glycol provoque chez le veau une augmentation de la pression artérielle pulmonaire et une diminution du débit cardiaque et du volume systolique. La pression aortique et la

fréquence cardiaque sont diminuées alors que les résistances systémiques et pulmonaires sont augmentées. La PVP ne semble pas modifier la pression pulmonaire, la résistance pulmonaire, le débit cardiaque et le volume systolique. Par contre, on observe avec cet excipient une augmentation significative de la pression aortique, de la fréquence cardiaque et de la résistance systémique par constriction des artérioles (56). A la vue de tous ces effets, il est vivement conseillé d'administrer les TC par voie i.v. sur une période d'au moins cinq minutes (59) ou diluées dans des solutions salines ou tout autre fluide ne contenant pas de cations polyvalents (108).

Des cas de néphrotoxicité ont été décrits à la suite d'administrations de fortes doses d'OTC chez le chien (116) et les ruminants (54,55,75,123). La toxicité rénale de l'OTC se manifeste à l'autopsie par des lésions segmentaires de nécrose des cellules épithéliales tubulaires caractérisées focalement par une pycnose nucléaire et une éosinophilie cytoplasmique. Cette toxicité peut être attribuée d'une part aux inhibitions induites des enzymes d'oxydoréduction présentes dans les cellules tubulaires et d'autre part à l'inhibition de la faculté du rein à concentrer les urines. Cependant, des facteurs autres que les fortes doses d'antibiotique peuvent contribuer à l'obtention de lésions rénales. Les excipients utilisés possèdent des effets cardio-vasculaires reconnus (cf. supra) et peuvent, au même titre que le stress, être à l'origine d'une baisse du débit sanguin rénal. La déshydratation peut causer une diminution du débit de filtration glomérulaire et une augmentation de la teneur en azote uréique (75). De plus, les traitements sont parfois effectués sur des animaux débilités pour lesquels le rein a pu être préalablement sensibilisé à la toxicité induite par les TC par certains facteurs comme une hypovolémie, une hypoxie, une diminution du débit sanguin rénal, une hémoglobinurie, une myoglobinurie, une hyperbilirubinémie, une septicémie, une toxémie ou encore l'administration concomitante de médicaments potentiellement néphrotoxiques (107). Chez le chien, l'administration par voie i.v. lente et la dilution d'une dose de 25 mg/kg permet d'éviter les signes cliniques d'un syndrome urémique (vomissement, diarrhée, déshydratation et azotémie) (86).

L'accumulation de la molécule, non éliminée par les reins ou suite à des administrations répétées et/ou dépassant les doses thérapeutiques recommandées, peut être à l'origine d'hépatotoxicité (dégénérescence graisseuse du foie associée à une stase biliaire) (108). De tels cas sont classiquement décrits chez l'espèce humaine pour des patients présentant un

dysfonctionnement hépatique pré-existant ou en cours de grossesse. Chez les ruminants, deux publications semblent révéler des cas d'hépatotoxicité iatrogène chez des veaux (54,120).

Un cas d'intoxication mortelle faisant suite au traitement de veaux par une solution contenant des produits de dégradation des TC a été décrit. A l'autopsie, les lésions observées ont été celles d'une néphropathie aiguë. Les muscles squelettiques, le myocarde et le cerveau étaient colorés de façon anormale et une dégénérescence hépatique était présente. Les produits de dégradation incriminés ont été l'épi-TC, la 4-épianhydro-TC et l'anhydro-TC (120). Aucune intoxication n'a été publiée concernant les produits de dégradation de l'OTC.

Une hémoglobinurie suivant l'administration par voie i.v. d'une formulation L.A. à base de 2-P a été notée chez trois bovins. L'étiologie est restée inconnue et les bovins ont tous retrouvé leur état physiologique sans complications ultérieures dans les 48 heures suivant l'arrêt du traitement (8).

Enfin, des cas de chocs anaphylactiques mortels (89) ou anaphylactoïdes (119) ont également été publiés.

Tous ces effets ont été décrits chez les bovins et aucune publication à ce sujet concernant les ovins n'a été trouvée.

Chez le mouton, le seul effet indésirable réellement documenté est l'irritation tissulaire locale induite par les administrations par voie i.m. Les irritations provoquées par les injections de cinq formulations d'OTC commercialisées (trois L.A. et deux S.A.) ont été comparées (95). Pour les formulations L.A., l'augmentation de la dose en principe actif ainsi que la présence d'excipients spécifiques (comme la 2-P ou la N-méthylpyrrolidone) sont responsables au site d'injection d'une irritation intra et inter-musculaire beaucoup plus sévère. En comparaison avec d'autres espèces (veaux et porcs), cette irritation reste cependant limitée. Ceci peut s'expliquer soit par le volume moins important administré aux moutons, soit par une tolérance supérieure des moutons aux diverses formulations d'OTC par rapport aux autres espèces. Une étude précise que la masse musculaire lésée en moyenne chez le mouton (calculée à partir des activités plasmatiques de la créatine kinase) suite à une injection unique de T.L.A. ND dans le muscle long du dos à la dose recommandée de 20 mg/kg est de 12 ± 5 g (48).

II. LA 2-PYRROLIDONE

II.1. GENERALITES

II.1.1. DESCRIPTION

Cette molécule a été mise au point et brevetée en 1980 comme excipient par les laboratoires PFIZER qui l'utilisent dans la composition de la T.L.A. ND (16,67). Elle existe cependant à l'état naturel et en petite quantité dans des produits alimentaires comme les tomates (30). La structure chimique ainsi que les principales caractéristiques physico-chimiques de la 2-P sont présentées dans la figure 2 et le tableau 3.

II.1.2. UTILISATION

La 2-P est une molécule très utilisée dans le monde industriel. Outre son rôle d'excipient en industrie pharmaceutique, elle est utilisée comme : intermédiaire dans la synthèse de la PVP et de la polypyrrolidone, solvant à haut point d'ébullition dans l'industrie pétrolière, solvant industriel pour les polymères, le chlordane, le DDT, le sorbitol, le glycérol, l'iode et les sucres, spécialité dans la fabrication des encres d'imprimerie, agent plastifiant et coalescent pour le nettoyage des sols (23). Elle joue également le rôle d'intermédiaire dans la production de colorants, d'émulsifiants, de stabilisants, d'agents protecteurs des cultures ou de produits polyadditionnés (14).

II.1.3. TOXICITÉ

Cette substance est classée comme très toxique (T+) si elle est ingérée, et irritante en cas de contact avec la peau ou les yeux. Par v.o., la DL₅₀ de la 2-P est de 6500 mg/kg chez le cobaye domestique (6). Cependant, la toxicité aiguë et chronique de cette substance n'est pas entièrement connue notamment en ce qui concerne ses éventuelles propriétés carcinogènes.

Un rapport de la Food and Drug Administration précise la valeur de la Dose Journalière Acceptable de 2-P qui est pour un homme de 60 kg de 1.2 mg/jour (47). Cette valeur a été calculée à partir d'une étude menée sur des rats pour lesquels aucun effet indésirable n'a été observé suite à l'administration par v.o. pendant 3 mois d'une dose de 20 mg/kg/jour (facteur de sécurité de 1000). Dans ce même rapport, le temps de demi-vie plasmatique de la 2-P radiomarquée et administrée par voie i.m. à des bovins à la dose de 40 mg/kg est de 6.6 h.

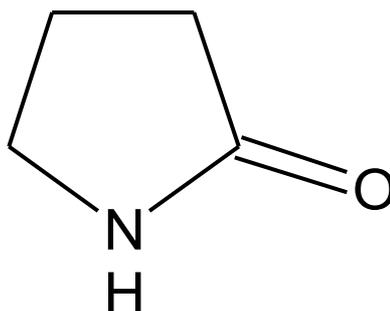


Figure 2 : Structure chimique de la 2-P

Tableau 3 : Principales propriétés physicochimiques de la 2-P (d'après 23)

Formule brute	C ₄ H ₇ NO
Synonymes	2-pyrrolidinone, 2-oxopyrrolidine, butyrolactame, α-pyrrolidone, 2-ketopyrrolidine
Composition chimique (%)	C : 56.45
	H : 8.29
	N : 16.46
Masse molaire relative (g/M)	O : 18.8
	85.10
	13.3
Viscosité à 25°C (cps)	13.3
Densité relative (g/cm ³)	d ₄ ²⁵ = 1.116
Point de solidification	25°C
Température d'ébullition ou « boiling point » (°C)	bp ₇₆₀ = 245
	bp _{9.2} = 113-114
	bp _{0.2} = 76
Miscibilité	Avec : eau, éthanol, éther, chloroforme, benzène, éthyl acétate, carbone disulfide

II.2. LA 2-PYRROLIDONE ET L'OTC LONGUE ACTION

Après la mise sur le marché des formulations S.A., de nouvelles formulations d'OTC ont été développées. Pour obtenir une augmentation des durées d'action, trois possibilités ont été envisagées (16). La première consistait à incorporer un excipient huileux à la préparation. Cette solution, retenue pour de nombreux médicaments dits « retard », propose une durée d'efficacité prolongée mais au détriment de l'effet immédiat, indispensable pour le traitement des affections aiguës. La deuxième correspondait à une augmentation de la posologie de l'OTC, soit en augmentant la dose, soit en augmentant la concentration du produit. Il est en effet reconnu que le simple fait d'augmenter la dose administrée (10 mg/kg au lieu de 5 mg/kg) permettait de prolonger le profil sanguin efficace d'une douzaine d'heures (la durée d'efficacité passant de 24 à 36 heures environ) (16). L'augmentation de la dose a pourtant ses limites car elle provoque une augmentation de l'irritation et des lésions musculaires au point d'injection ainsi que des problèmes possibles de résidus tissulaires. La troisième solution consistait à utiliser un excipient qui contrôle le degré de précipitation de l'OTC dans le tissu musculaire et le relargage du principe actif dans le sang. Tel est le rôle joué par la 2-P qui assure à la fois la précipitation prolongée d'une partie de la dose (dont la résolubilisation progressive est responsable de l'effet « Longue Action » (L.A.)) et la résorption immédiate de l'autre partie, biodisponible rapidement (utile pour le traitement des affections aiguës) (2). Les difficultés rencontrées lors du choix de cet excipient et de la synthèse de la formulation L.A. venaient des caractéristiques de l'OTC concernant notamment son aptitude à former des complexes et sa faible solubilité. Mais une fois obtenue, la formulation présentait la stabilité physique et chimique, la sécurité d'emploi, l'efficacité ainsi que le profil cinétique recherchés. Une étude plus récente a proposé de combiner de l'OTC S.A. (OTC-HCl) avec du calcium (CaCl_2) (2:1, M/M) afin de voir s'il était possible de modifier l'absorption de l'OTC suite à une chélation avec le calcium. La vitesse d'absorption de l'antibiotique à partir du site d'injection a été ralentie mais sans pour autant générer un effet L.A. (111).

II.3. LA 2-PYRROLIDONE ENDOGENE

De nombreuses études, essentiellement dans le domaine de la neurologie, ont été publiées au sujet de la 2-P. La putrescine (1,4-diaminobutane) est synthétisée à partir de l'ornithine et son métabolisme est à l'origine en particulier de la production d'Acide Gamma AminoButyrique ou GABA, le plus important neurotransmetteur inhibiteur des mammifères (79). Dès la fin des

années 70, il a été démontré que la 2-P était synthétisée *in vitro* à partir de la putrescine dans le foie, la rate et le poumon de rat mais pas dans le rein, le cerveau, le cœur ou les muscles (80). La 2-P est également un des métabolites du GABA (réaction réversible) et elle possède des effets antiépileptiques. Comme cela avait déjà été montré chez le rat, on a détecté la présence en grandes quantités *in vivo* de 2-P dans le liquide céphalorachidien d'hommes sains (61). De plus, la prise de médicaments antiépileptiques comme la vigabatrine (61), la gabapentine (100) ou le topiramate (99) augmente la concentration cérébrale en GABA et en 2-P, prévenant ainsi partiellement la survenue de crises d'épilepsie. Mais son rôle physiologique notamment dans l'homéostasie du système « GABA-ergique » n'est pas encore totalement connu.

III. DONNEES PHARMACOCINETIQUES SUR L'OXYTETRACYCLINE

III.1. GENERALITES

L'OTC administrée sous sa forme base ou sous forme de sels se comporte pharmacologiquement de la même façon. Cependant, la relative insolubilité de la base limite son emploi pour les préparations injectables par voie parentérale mais son goût moins amer est appréciable pour les formulations administrables par v.o. (18).

III.1.1. ABSORPTION

La biodisponibilité de l'OTC dépend beaucoup de la voie d'administration (i.m., s.c., i.p. ou v.o.).

Par voie i.m., la biodisponibilité et le C_{max} de l'OTC varient en fonction du site d'injection. Chez le veau, la biodisponibilité est maximale pour une injection effectuée dans l'épaule ($98 \pm 7 \%$) par rapport à une injection pratiquée dans la croupe ($79 \pm 11 \%$) ou dans le cou ($87 \pm 9 \%$) (97). Cependant, en pratique (chez les animaux de rente) et dans de nombreux essais de produits, le site d'injection est l'encolure pour plusieurs raisons : techniquement, l'encolure est en général facilement accessible ; économiquement, l'encolure ne contient pas de muscle à haute valeur commerciale ; enfin, concernant la santé publique, les injections faites à l'encolure sont facilement repérables à l'abattoir (93,97).

Par voie s.c., les profils des concentrations sanguines sont similaires à ceux observés avec une administration par voie i.m. Cependant, avec cette voie, l'irritation au site d'injection est moins importante. Chez le veau, la comparaison a été effectuée entre l'administration dans la région du cou d'une dose de 10 mg/kg d'une formulation S.A. (à base de propylène glycol comme excipient) par voies i.m. et s.c. Les AUC plasmatiques ont été de 52 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ pour les deux voies d'administration et le temps pendant lequel les concentrations sanguines ont été supérieures à 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ a été de 32 h pour la voie s.c. et 30 h pour la voie i.m. (36). Une étude antérieure avait déjà rapporté l'absence de différence significative entre les paramètres PK obtenus avec une formulation S.A. d'OTC administrée soit par voie i.m. dans la croupe ou le cou, soit par voie s.c. (97). La comparaison des deux voies d'administration a également été réalisée avec des formulations L.A. administrées à la dose recommandée de 20 mg/kg. Des

similarités entre les résultats ont été observées. Celles-ci ont été attribuées à la réponse inflammatoire engendrée par l'injection, l'accumulation de transsudats autour du site d'injection permettant une absorption similaire du produit quelque soit la voie d'administration considérée (28).

Par v.o., la biodisponibilité de l'OTC est chez l'homme de 58 % (45). Chez des chiens et des chats, elle est d'environ 30 % (40) mais aucune donnée ne concerne le mouton. La faible biodisponibilité de l'OTC par v.o. peut s'expliquer par deux raisons (22). La première est que l'OTC, peu lipophile, ne traverse pas facilement la barrière intestinale. La deuxième est que cette molécule possède un groupe hydroxyle en C₆ responsable de sa dégradation dans le tractus intestinal. Cette réaction conduit à la formation de produits inactifs et non absorbables, irritants même pour la muqueuse intestinale. Ce pourcentage d'absorption peut diminuer en cas de formation de chélates avec des aliments (surtout les produits laitiers), des antiacides (comme l'hydroxyde d'aluminium) ou des préparations contenant des ions métalliques (22,91). Une étude menée chez de jeunes veaux (au rumen non fonctionnel) a ainsi montré que la biodisponibilité par v.o. de l'OTC était réduite d'environ 54 % (par rapport à une prise à jeun) lorsque l'antibiotique était administré avec du lait et de 83 % lorsque celui-ci était administré une heure après un repas lacté (82).

III.1.2. FIXATION AUX PROTÉINES PLASMATIQUES

La plupart des antibiotiques sont fixés aux protéines plasmatiques *in vivo*. La valeur de cette fixation est importante d'un point de vue thérapeutique car seules les molécules libres d'OTC peuvent exercer leur activité antibiotique, les molécules fixées étant temporairement inactives (22). Dans certains cas, la fixation protéique peut modifier la distribution de la molécule en retardant son transfert du plasma vers les sites extravasculaires, dont ceux de métabolisation et d'excrétion. La fixation dépend non seulement du médicament mais également de la dose administrée et de l'espèce considérée (77). Parmi les TC, l'OTC est la molécule la moins fixée aux protéines plasmatiques (11). Cette liaison a été largement étudiée chez l'homme et les résultats montrent qu'elle est plutôt faible (27 à 35 %) (45). Chez les animaux, le pourcentage de fixation protéique est également de 27 % chez le chien (13,74), 21 à 25 % chez le mouton (83,128,129), environ 50 % chez le cheval (62,102) et 67 % chez la chèvre naine (9).

Chez les bovins, les résultats varient selon les auteurs. Une étude menée chez 14 vaches en lactation a mis en évidence une fixation protéique de 72 ± 7.4 %, valeur déterminée par

ultrafiltration (93). Cette valeur est très supérieure aux résultats antérieurement publiés chez les bovins obtenus par la méthode de dialyse à l'équilibre qui sont de 19 % (129) et d'environ 50 % (62). Une autre étude montre que, pour des concentrations testées comprises entre 2.5 et 5 µg/mL, la fixation est de 23 ± 3.5 %, valeur déterminée par ultrafiltration (128). Cette variation des résultats obtenus peut être due soit à la diversité des méthodes utilisées (93), soit aux différences de pH du milieu étudié (62) car seul le pH physiologique (de 7.4) permet d'apprécier de façon correcte la liaison aux protéines.

III.1.3. DISTRIBUTION

L'affinité des TC pour les tissus et les protéines plasmatiques est le déterminant majeur de sa distribution *in vivo* (77). La distribution des TC dans l'organisme dépend donc essentiellement du caractère lipophile de l'antibiotique : plus une molécule est lipophile, plus sa fraction tissulaire est importante. L'OTC, peu lipophile, ne peut pas effectuer certains passages membranaires (pour accéder au liquide céphalo-rachidien, aux humeurs aqueuse et vitrée) et tissulaires (comme le tissu adipeux ou la prostate). Cependant, elle est largement distribuée et pénètre dans la majorité des tissus. Seuls le cerveau, la prostate et surtout le tissu adipeux sont très peu perméables aux TC en général (101). Le volume de distribution de l'OTC chez le mouton est compris entre 0.8 et 2.7 L/kg (tableau 3).

La distribution tissulaire, appréciée par le rapport des concentrations tissulaires et sériques, varie selon les organes. Chez des bovins, après une administration d'OTC L.A. par voie i.m., les concentrations d'antibiotique sont proches de celles du plasma pour le muscle et le poumon alors que pour les organes d'élimination (foie et rein), les concentrations sont plus élevées. Le rapport muscle/sérum est en effet de 0.86, le rapport poumon/sérum est de 0.93 alors que le rapport foie/sérum est de 2.4 (121). Le rapport rein/sérum varie selon les auteurs de 6.5 (121) à 10 (93).

L'OTC est distribuée non seulement dans les liquides extracellulaires mais également à l'intérieur des cellules ce qui explique son intérêt dans le traitement de certaines infections à germes intracellulaires comme la chlamydie ou la brucellose (45).

L'examen microscopique de la fluorescence révèle que l'OTC présente une affinité élective pour le tissu osseux et les dents en croissance et une affinité sélective pour les tissus tumoraux et nécrosés (101). 24 heures après l'administration par voie i.v. d'une dose de 11 mg/kg d'une

formulation S.A., les concentrations tissulaires en OTC sont supérieures dans les poumons de cinq veaux atteints de pneumonie (environ 1.5 µg/mL) par rapport aux poumons de cinq veaux sains (1.1 µg/mL). On observe également chez les animaux malades une augmentation du volume de distribution et du temps de demi-vie plasmatique (7). Chez dix moutons, après l'administration par voie i.v. d'une dose de 10 mg/kg d'une formulation S.A., l'antibiotique se trouve en quantité plus élevée au bout d'une heure dans le tissu pulmonaire consolidé (suite à une infection bactérienne) que dans le tissu pulmonaire sain, la différence étant significative ($P < 0.01$) (15). Par contre, la distribution de l'OTC L.A. ne semble pas être modifiée chez des moutons infectés par *Brucella melitensis* et traités toutes les 48 heures pendant trois semaines à la dose de 25 mg/kg. En effet, les moyennes du rapport V_{ss}/F obtenues chez deux moutons sains ou chez six moutons infectés sont à peu près égales (variation inférieure à 10 %) (106).

III.1.4. MÉTABOLISME ET ELIMINATION

Des marquages radioactifs ont été utilisés pour l'étude des biotransformations *in vivo* des TC ; on a montré que ces antibiotiques ne sont pas métabolisés de façon significative, notamment l'OTC chez l'homme (46) et la TC chez le rat et le chien (70). Cependant, les études à ce sujet restent limitées et aucune ne concerne les ruminants. De plus, il est probable que la majorité des produits de dégradation retrouvés dans la bile et dans les urines soient formés après élimination de l'OTC par le foie et le rein (77).

Les TC sont excrétées dans les urines, la bile et les fèces et sont sécrétées via la salive et le lait. Chez des bovins, 62 à 88 % (85) et 73 à 96 % (94) de la dose d'OTC injectée sont retrouvés inchangés dans les urines après 72 heures. Cette quantité est la même quelque soit la formulation et la voie d'administration (entre 55 et 60 % au bout de quatre jours) (127). Chez des vaches et des moutons, 78 à 88 % de la dose sont retrouvés inchangés essentiellement dans les 48 heures suivant l'administration et la présence d'OTC dans les urines est détectable pendant 84 h chez les ovins et 192 h chez les bovins (77). L'OTC, peu lipophile, est donc excrétée majoritairement dans les urines. Le facteur majeur gouvernant le mode d'excrétion des TC est en effet la lipophilie : plus une molécule est lipophile, plus son excrétion est biliaire et moins elle est éliminée par voie rénale (22). Chez des chiens, la minocycline est ainsi éliminée entre 6 et 15 % d'une dose administrée par voie parentérale dans les urines et entre 80 et 90 % dans les fèces alors que l'OTC est éliminée à 53 % dans les urines et 2 % dans les fèces (13). Plus précisément, cette élimination rénale est due majoritairement à une

filtration glomérulaire, partiellement à une sécrétion tubulaire et de façon très minoritaire à une réabsorption dans le tractus urinaire (au niveau du tubule distal) de vaches en lactation. La clairance de l'OTC est largement corrélée au débit urinaire chez des bovins. Dans le cas d'une insuffisance rénale, l'élimination plus lente entraîne l'obtention de concentrations plasmatiques d'OTC plus élevées tandis que l'utilisation de diurétiques favoriserait l'élimination de l'antibiotique (94).

Une étude a étudié les effets de la fasciolose sur la PK de l'OTC et de l'érythromycine (antibiotique subissant d'importantes biotransformations *in vivo* (24)) chez des moutons et des veaux. L'infection, provoquée expérimentalement par l'administration de métacercaires de *Fasciola hepatica* aux animaux, a été vérifiée par le suivi des concentrations plasmatiques de GLutamate DésHydrogénase et de γ -Glutamyl Transférase et par la quantification des douves adultes présentes dans le foie à l'autopsie. La comparaison des paramètres PK obtenus chez des animaux infectés et chez des animaux sains a montré que la PK de l'OTC n'était pas modifiée lors de fascioloses aiguës ou chroniques chez les ovins. Par contre, une modification des paramètres d'élimination (clairance et temps de demi-vie plasmatique) était observée chez les veaux lors d'infections chroniques. Cette différence interspécifique a été expliquée par le fait que la fasciolose provoque une fibrose et une cholangite chronique avec calcification des canaux biliaires beaucoup plus sévères chez les bovins. Chez les moutons, la PK de l'érythromycine a été modifiée avec une augmentation du temps de demi-vie plasmatique et du volume de distribution (25).

Enfin, comme toutes les TC, l'OTC a un poids moléculaire suffisamment important pour être retrouvée dans la bile (non métabolisée par le foie mais simplement excrétée sous sa forme active) puis dans le tube digestif où elle est réabsorbée partiellement via un cycle entéro-hépatique (127). Chez des rats, 73 % d'une quantité de TC présente dans le tube digestif via la bile est réabsorbée en quatre heures (1).

III.2. PHARMACOCINETIQUE DE L'OTC INJECTEE PAR VOIE I.V.

De nombreux facteurs sont susceptibles de modifier les paramètres PK de l'OTC (84). Les plus importants sont l'espèce animale (41,72), l'âge (96), le poids (44) et l'état physiopathologique des sujets (7,9,73,110), la posologie, le débit urinaire (94) et la modélisation PK. Dans le cas d'administrations par voie i.m., on peut également citer le lieu

d'injection (97), la nature de l'excipient (12), le volume injecté et le nombre de points d'injection (109) et l'irritation engendrée. Il est donc nécessaire de considérer toutes ces sources potentielles de variation avant d'analyser un résultat.

III.2.1. FORMULATIONS « SHORT-ACTING »

La courbe des concentrations plasmatiques d'OTC administrée par voie i.v est couramment décrite mathématiquement chez les différentes espèces animales par une équation bi-exponentielle (3,20,41,43,44,77,78,88,102,103,122,128) du type :

$$C_t = Y_1 \cdot e^{-\lambda_1 \cdot t} + Y_2 \cdot e^{-\lambda_2 \cdot t}$$

Cependant, à l'aide du critère d'Akaike, certains auteurs ont ajusté leurs données cinétiques par des modèles mono (25) ou tri-compartimental (85,93,94,109,127).

La figure 3 présente une représentation graphique semi-logarithmique classiquement rencontrée des concentrations plasmatiques d'OTC S.A. en fonction du temps.

Les tableaux 4 et 5 résument les principaux paramètres PK existants pour des formulations S.A. administrées par voie i.v. à des ovins (tableau 4), ou à des caprins et des bovins (tableau 5).

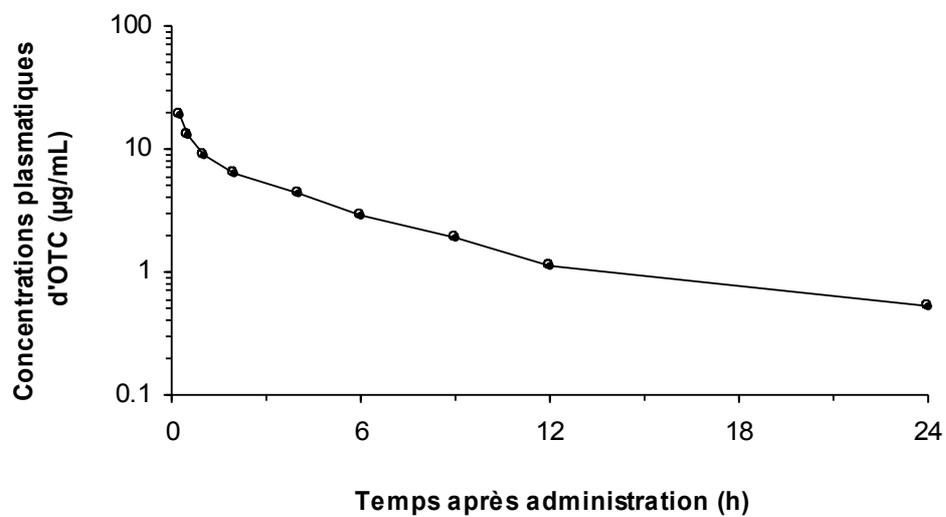


Figure 3 : Représentation graphique semi-logarithmique des concentrations plasmatiques moyennes d'OTC en fonction du temps obtenues chez 5 moutons adultes après administration par voie i.v d'une dose de 10 mg/kg d'une formulation S.A. d'OTC (TERRAMYCINE 100 Sol. inj. ND) (d'après 44)

Tableau 4 : Principaux paramètres PK (Moyenne \pm SD) de différentes formulations S.A. d'OTC administrées par voie i.v. chez des ovins

ANIMAUX (nombre, catégorie, âge ou poids)	FORMULATIONS D'OTC	DOSE I.V. mg/kg	Cl mL/min/kg	$t_{1/2\lambda_2}$ h	V_{area} L/kg	METHODE DE DOSAGE (sensibilité en $\mu\text{g/mL}$)	REF.
6 BREBIS de 35-45 kg	OTC - HCl à 5 %	11	1.4	3.6	0.88	HPLC (N.P.)	77
11 MOUTONS de 31-40 kg	TERRAMYCINE 100 Sol. inj. ND (PFIZER)	20	2.7 \pm 0.13	3.3	0.8 \pm 0.02	HPLC (0.1) Détection à 365 nm	88
MOUTONS Adultes (effectif N.P.)	TERRAMYCINE 100 Sol. inj. ND (PFIZER)	10	2.6	6.1	1.4	N.P.	103
5 MOUTONS d'environ 43 kg	TERRAMYCINE 100 Sol. inj. ND (PFIZER)	10	2.6	6.2	1.4	HPLC (0.05) Détection à 365 nm	44
6 MOUTONS de 2-5 ans	TERRAMYCINE ND (PFIZER agricole)	10	1.4 \pm 0.3	5.7 \pm 0.63	N.P.	MICROBIO Bacillus cereus (N.P.)	25
10 MOUTONS de 16 mois	TERRAMYCINE ND (PFIZER agricole)	10	2.2 \pm 0.	4.6 \pm 0.56	N.P.	MICROBIO Bacillus cereus (N.P.)	25
7 MOUTONS de 32-41 kg	OTC - HCl	20	2.2 \pm 0.25	5.2	N.P.	HPLC (N.P.)	87
6 MOUTONS de 40-43 kg	OTC 100 PVP (PFIZER Lab. Limited, Pakistan)	7.5	1.2 \pm 0.15	N.P.	2.1 \pm 0.10	MICROBIO Bacillus subtilis (N.P.)	3
5 « DESERT SHEEP » de 16-20 kg	OTC-HCl (FARVET, Pays-Bas)	5	4.7 \pm 0.42	6.3	2.7 \pm 0.39	MICROBIO Bacillus cereus (0.1)	41
6 AGNEAUX de 14 kg	N.P.	10	4.3	5.7	2.2	HPLC (N.P.)	78
6 AGNEAUX de 17-27 kg	OTC 100 PVP (PFIZER Lab. Limited, Pakistan)	7.5	2 \pm 0.2	8.9 \pm 1.08	1.4 \pm 0.05	MICROBIO Bacillus subtilis (N.P.)	3

N.P. : Non Précisé

REF. : Référence bibliographique

Tableau 5 : Principaux paramètres PK (Moyenne \pm SD) de différentes formulations S.A. d'OTC administrées par voie i.v. chez des caprins et des bovins

(a) : Valeurs non précisées dans la publication, calculées par l'équation : $Cl = Dose / AUC$ avec $AUC = (Y_1 / \lambda_1) + (Y_2 / \lambda_2)$

ANIMAUX (nombre, espèce, âge ou poids)	FORMULATIONS D'OTC	DOSE I.V. mg/kg	Cl mL/min/kg	$t_{1/2} \lambda_2$ h	V_{area} L/kg	METHODE DE DOSAGE (sensibilité en μ g/mL)	REF.
10 CHEVRES d'environ 40 kg	TERRAMYCINE 100 Sol. inj. ND (PFIZER)	10	2.6	6.5	1.4	HPLC (0.05) Détection à 365 nm	44
10 CHEVRES de 38-43 kg	TERRAMYCINE 100 Sol. inj. ND (PFIZER)	10	2.7	6.5 \pm 0.24	1.4 \pm 0.04	HPLC (0.05) Détection à 365 nm	43
5 CHEVRES NAINES d'environ 38 kg	ENGEMYCINE ND (GIST- BROCADES)	10	2.2 \pm 0.17	6.1 \pm 0.58	N.P.	MICROBIO (N.P.)	9
5 « NUBIAN GOATS » de 10-12 kg	OTC - HCl (FARVET, Pays-Bas)	5	7.3 \pm 0.80	3.9	2.5 \pm 0.29	MICROBIO Bacillus cereus (0.1)	41
8 VACHES LAITIERES de 510-675 kg	Oxytétracycline 10 % VETOQUINOL ND (VETOQUINOL)	5	1.3 \pm 0.17	6.7 \pm 0.96	0.8 \pm 0.18	MICROBIO Bacillus cereus (0.06)	122
4 VACHES de 240-400 kg	TERRAMYCINE ND (PFIZER)	10	1.4 \pm 0.21	6.1 \pm 1.07	0.8 \pm 0.04	HPLC (0.1)	127
5 VACHES LAITIERES de 500-600 kg	OTC Chlorhydrate à 5 % (RIGAUX S.A.)	5	1.5 \pm 0.07	8.5 \pm 0.48	1.1 \pm 0.05	HPLC (0.1) Détection à 355 nm	109
5 VACHES LAITIERES de 415-733 kg	ENGEMYCINE ND	5	1.2 \pm 0.09	9.5 \pm 1.40	0.9 \pm 0.13	MICROBIO (N.P.)	94
10 VACHES LAITIERES de 415-733 kg	OTC Dihydrate à 10 % - PEG (CIBA-GEIGY)	5.2 \pm 0.55	1.5 \pm 0.21	9.5 \pm 2.71	1 \pm 0.2	MICROBIO (N.P.)	94
10 VACHES LAITIERES	OTC Dihydrate à 10 % - PEG (CIBA-GEIGY)	5	1.3 \pm 0.17	10 \pm 2.1	1 \pm 0.2	MICROBIO (N.P.)	85
10 VACHES LAITIERES de 361-568 kg	OTC - HCl (SIGMA)	22	0.9 (a)	6.5	0.5 \pm 0.08	HPLC (N.P.)	20
6 VEAUX de 6 semaines	TERRAMYCINE 100 Sol. inj. ND (PFIZER)	10	2.7 \pm 0.33	7.1 \pm 1.36	1.6 \pm 0.16	MICROBIO Bacillus cereus (0.125)	110
8 VEAUX de 14 à 25 jours	TERRAMYCINE 100 Sol. inj. ND (PFIZER)	10	1.9 (a)	5.9	0.9 \pm 0.18	MICROBIO Bacillus cereus (0.1)	121
6 VEAUX de 14 semaines	ENGEMYCINE ND (MYCOFARM BV, Pays-Bas)	17 \pm 2.3	2 (a)	11 \pm 2.1	1.8 \pm 0.27	MICROBIO (0.07)	97

N.P. : Non Précisé

REF. : Référence bibliographique

III.2.2. FORMULATIONS « LONG-ACTING »

Les données concernant l'OTC L.A. administrée par voie i.v. n'existent pas chez le mouton mais sont disponibles chez d'autres espèces.

La courbe des concentrations plasmatiques d'OTC L.A. administrée par voie i.v est couramment décrite mathématiquement chez les bovins par une équation bi-exponentielle (43,110,121).

La figure 4 propose une représentation graphique semi-logarithmique classiquement rencontrée des concentrations plasmatiques d'OTC L.A. en fonction du temps.

Les principaux paramètres PK existants pour des formulations L.A. administrées par voie i.v. sont présentés dans le tableau 6.

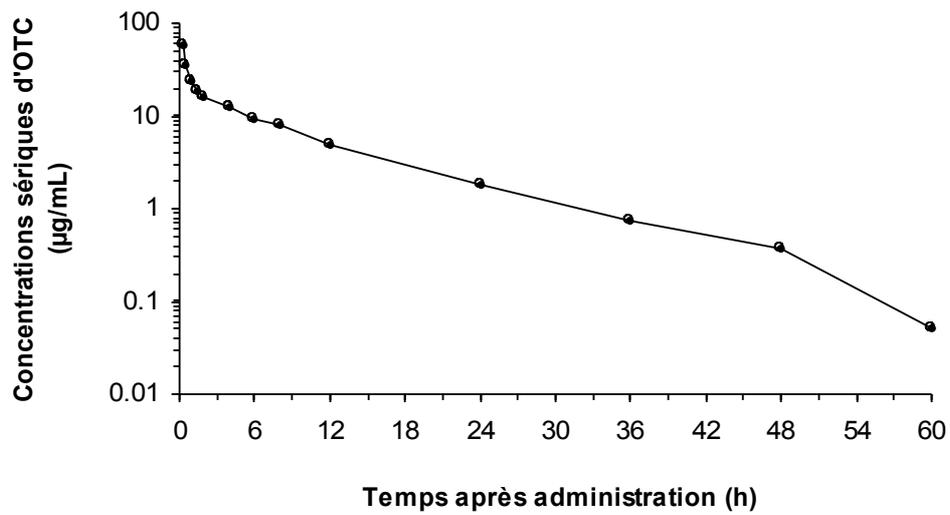


Figure 4 : Représentation graphique semi-logarithmique des concentrations sériques moyennes d'OTC en fonction du temps obtenues chez 15 bovins de 200 kg environ après administration par voie i.v d'une dose de 20 mg/kg de T.L.A.ND (d'après 35)

Tableau 6 : Principaux paramètres PK (Moyenne \pm SD) de différentes formulations L.A. d'OTC administrées par voie i.v. chez plusieurs espèces

(a) : Valeur non précisée dans la publication, calculée par l'équation : $Cl = Dose / AUC$ avec $AUC = (Y_1 / \lambda_1) + (Y_2 / \lambda_2)$

(b) : Valeurs calculées par une approche non-compartimentale à partir des concentrations plasmatiques d'OTC en fonction du temps données dans la publication

ANIMAUX (nombre, espèce, âge ou poids)	FORMULATIONS D'OTC	DOSE I.V. mg/kg	Cl mL/min/kg	$t_{1/2}$ h	V_{area} L/kg	METHODE DE DOSAGE (sensibilité en μ g/mL)	REF.
5 CHEVRES de 38-43 kg	T.L.A. ND (PFIZER)	10	2.3 \pm 0.17	6 \pm 0.4	1.2 \pm 0.06	HPLC (0.05) Détection à 365 nm	43
6 BOVINS de 6/7 mois	T.L.A. ND (PFIZER)	20	1.2 \pm 0.04	7.4 \pm 0.49	N.P.	MICROBIO Bacillus cereus (0.125)	73
15 BOVINS d'environ 200 kg	T.L.A. ND (PFIZER)	20	1.5 (b)	5.3 (b)	N.P.	MICROBIO Bacillus cereus (0.24)	35
6 BOVINS de 212- 275 kg	T.L.A. ND (PFIZER)	20	1.1 (a)	9	0.9 \pm 0.15	MICROBIO Bacillus cereus (0.1)	121
6 CHEVAUX de 410- 470 kg	BIOMYCINE 200 ND (BOEHRINGER, Canada)	6.6	2 \pm 0.4	6.1	N.P.	MICROBIO Bacillus cereus (0.1)	38
8 VEAUX de 6 semaines	OXYTETRA 200 ND (STRICKER)	10	4.7 \pm 0.67	7.2 \pm 1.17	2.8 \pm 0.24	MICROBIO Bacillus cereus (0.125)	110

N.P. : Non Précisé

REF. : Référence bibliographique

III.3. PHARMACOCINETIQUE DE L'OTC INJECTEE PAR VOIE I.M.

III.3.1. FORMULATIONS S.A. VS FORMULATIONS L.A. : L'EFFET LONGUE ACTION

Les différents systèmes de solvants utilisés par les laboratoires dans leur formulation L.A. induisent une irritation locale au site d'injection qui, associée à une dose administrée supérieure, est responsable du comportement PK « L.A. » de l'OTC (95). Pour des doses de 7.2 et 18.1 mg/kg de T.L.A.ND administrées par voie i.m. à 18 veaux pesant entre 100 et 150 kg, l'irritation tissulaire engendrée n'est pas suffisamment importante pour générer, de façon indiscutable, un effet L.A. Par contre, pour des dose de 27.9 mg/kg, il est possible de mettre en évidence un effet L.A. (92).

III.3.1.1. ADMINISTRATION D'UNE MEME DOSE DE TERRAMYCINE 100 SOL. INJ.ND ET DE T.L.A.ND

Le dossier technique de la T.L.A.ND mis à la disposition des utilisateurs propose la comparaison des concentrations sériques (figure 5) et des paramètres PK obtenus chez des bovins de 200 kg après une injection par voie i.m. d'une dose de 20 mg/kg de T.L.A.ND ou de TERRAMYCINE 100 Sol. inj.ND (soit 2 fois la dose normalement utilisée) (12). Par comparaison avec la formulation S.A., les concentrations sériques sont supérieures à la limite de quantification pendant une durée deux fois plus longue (120 heures) avec la formulation L.A., la biodisponibilité est supérieure de 10 % (78.5 %) et le pic sérique est moins élevé (3.35 vs 6.5 µg/mL). Dans une autre étude menée chez les bovins, des résultats très semblables ont été trouvés. Le pic sérique observé avec la formulation L.A. (3.3 µg/mL) a été environ deux fois moins important que celui obtenu avec la formulation S.A. (6.5 µg/mL). Avec la formulation L.A., on a obtenu une prolongation significative des concentrations sériques d'OTC (concentrations supérieures à 0.5 µg/mL pendant un peu plus de 35 heures supplémentaires) (35). Des résultats similaires ont également été publiés chez des chèvres (pic sérique de 3.4 µg/mL, biodisponibilité de 79.4 %, concentrations supérieures à 0.5 µg/mL pendant 72 heures) (43). Ces études soulignent l'importance de la présence d'excipients spéciaux (comme la 2-P) dans les formulations L.A. pour l'obtention de l'effet L.A. par voie i.m. Le tableau 7 résume les principaux paramètres PK obtenus lors de ces trois études.

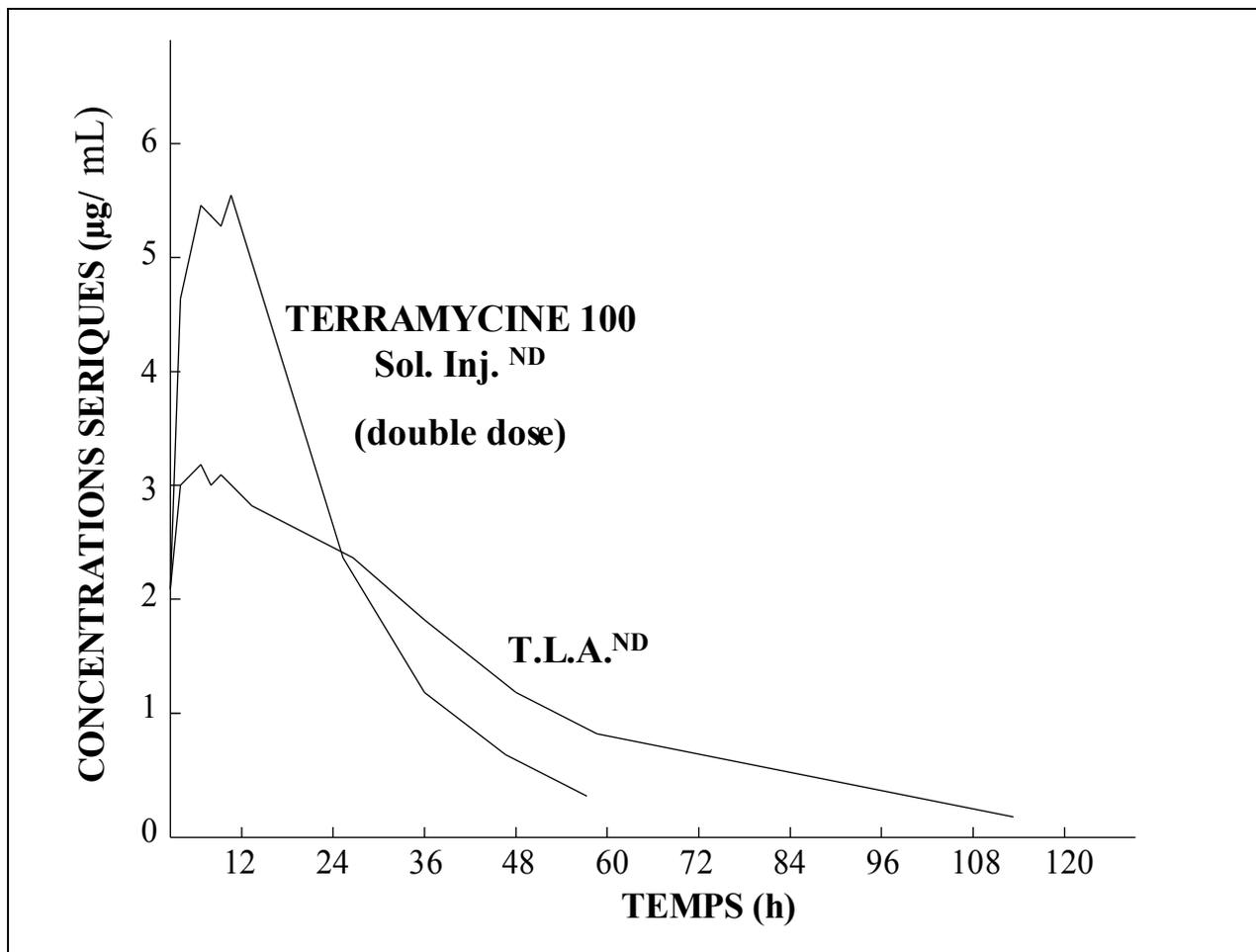


Figure 5 : Représentation graphique des concentrations sériques moyennes d'OTC en fonction du temps obtenues chez des bovins de 200 kg (effectif non précisé) après injection par voie i.m. d'une dose de 20 mg/kg de T.L.A. ND ou de TERRAMYCINE 100 Sol. inj. ND (source : 12)

Tableau 7 : Comparaison des paramètres PK de l'OTC obtenus après administration par voie i.m. d'une dose de 20 mg/kg de T.L.A.ND ou de TERRAMYCINE 100 Sol. inj.ND chez des bovins et des caprins

La référence 12 correspond à une étude menée chez des bovins de 200 kg (effectif non précisé), la référence 35 à une étude menée chez 15 bovins mâles et la référence 43 à une étude menée chez 5 chèvres

	TERRAMYCINE 100 Solution injectableND	T.L.A.ND	REF.
Biodisponibilité (%)	68.5	78.5	12
	76.8	78.5	35
	65.5	79.4	43
Temps de demi-vie plasmatique (h)	11	37	12
	11.1	36.9	35
	8.2	28	43
Pic sérique (µg/mL)	5.82	3.35	12
	6.5	3.3	35
	4.6	3.4	43
Temps (h) pendant lequel les concentrations sériques sont supérieures à la limite de quantification (LOQ non précisée)	60	120	12
Temps (h) pendant lequel les concentrations sériques sont supérieures à 0.5 µg/mL	51.5	86.8	35
	48	72	43
AUC plasmatique (µg.h/mL)	86.1	104.4	43
Répartition de l'AUC plasmatique :			
- 0-36 heures (%)	87	57	12
	87	55.7	35
- après 36 heures (%)	13	43	12
	13	44.3	35

REF. : Référence bibliographique

De tels résultats n'ont pas toujours été observés. Chez quatre bovins, les profils des concentrations plasmatiques ont été assez similaires pour les deux formulations. Les valeurs des AUC plasmatiques ont été très proches et les pics plasmatiques, d'une valeur d'environ 7 µg/mL, ont été obtenus 6 à 8 heures après administration. Les concentrations ont été maintenues au-dessus de 0.5 µg/mL pendant approximativement 60 heures, indiquant ainsi l'absence d'un effet retard observé avec la formulation L.A. par rapport à la formulation S.A. (127). Cette remise en cause de l'existence d'un effet L.A. avait déjà été suggérée. L'injection unique de T.L.A. ND à des veaux de différents âges par voie i.m. (dose de 20 mg/kg) avait permis d'obtenir des concentrations sériques supérieures à 0.5 µg/mL pendant seulement deux jours (81).

Chez des chèvres, la comparaison des deux formulations de TERRAMYCINE ND a montré un effet prolongé des concentrations sanguines avec la formulation L.A. Les auteurs ont alors proposé, selon la formulation d'OTC utilisée par voie i.m., deux schémas posologiques permettant de maintenir des concentrations plasmatiques efficaces : avec la formulation S.A., une dose initiale de 10 mg/kg suivie d'une dose d'entretien de 8.5 mg/kg toutes les 24 heures ; avec la formulation L.A., une dose initiale de 20 mg/kg puis des doses de 14 mg/kg toutes les 48 heures (43).

Chez le porc, cette comparaison n'a montré l'existence que d'un léger effet retard attribuable à l'irritation supérieure induite par l'utilisation de la formulation L.A. d'OTC. Des concentrations plasmatiques supérieures à 0.5 µg/mL ont été maintenues pendant seulement 35 h avec la formulation L.A. contre 28 h avec la formulation S.A. (126).

III.3.1.2. ADMINISTRATION UNIQUE DE LA FORMULATION L.A. VS ADMINISTRATIONS REPETEES DE LA FORMULATION S.A.

La comparaison des profils cinétiques obtenus avec d'une part l'administration unique de la formulation L.A. à la dose de 19.8 mg/kg et d'autre part les administrations quotidiennes pendant 3 jours consécutifs d'une formulation S.A. d'OTC à 5 % à la dose de 6.6 mg/kg montre que les concentrations plasmatiques sont supérieures pendant plus de 48 heures avec la formulation L.A. (31). Chez de jeunes bovins, les concentrations dans le compartiment périphérique sont plus élevées lors d'une administration d'une dose de 20 mg/kg par voie i.m. de T.L.A. ND en comparaison avec l'administration de TERRAMYCINE 100 Sol. inj. ND selon 2

traitements différents (10 mg/kg par voie i.v. initialement puis 24 heures après 10 mg/kg par voie i.m. ou 10 mg/kg par voie i.m. initialement puis les 2 jours suivant 5 mg/kg par voie i.m.) (121). Chez des bovins, une étude confirme l'obtention de concentrations plasmatiques plus élevées avec l'injection unique de T.L.A. ND (20 mg/kg) vs deux injections à 24 heures d'intervalle de TERRAMYCINE 100 Sol. inj. ND (10 mg/kg) par voie i.m. Avec la formulation L.A., le pic des concentrations sanguines a été de 4.5 µg/mL, 6 heures après injection alors qu'avec la formulation S.A., ce pic a été de 2.7 µg/mL, 4 heures après la première injection et de 3.2 µg/mL, 4 heures après la seconde. Les concentrations obtenues avec la formulation S.A. n'ont été supérieures à celles observées avec la formulation L.A. que pendant une courte période (environ entre 2 et 6 heures après la deuxième administration), et la différence n'a été que de 0.7 µg/mL (117).

Les profils cinétiques obtenus avec l'utilisation d'une formulation L.A. sont plus constants au cours du temps par rapport aux profils en dents de scie obtenus avec des administrations répétées de la formulation S.A. (35). Ces derniers profils résultent de phases d'absorption et d'élimination rapides pouvant donner des concentrations sanguines et tissulaires en principe actif en dessous des CMI.

L'équivalence au niveau de l'efficacité clinique entre l'injection unique d'une formulation L.A. et deux injections d'une formulation S.A. a été mise en évidence à plusieurs reprises, notamment chez 14 veaux d'environ 200 kg atteints d'anaplasmose. Cette maladie est une infection parasitaire à *Anaplasma marginale* responsable d'avortements, de perte importante de poids, d'une baisse de la production de lait et peut parfois conduire à la mort de l'animal infecté. Les animaux malades ont été divisés en deux groupes : les 7 veaux du premier groupe ont reçu une injection d'une formulation L.A. à la dose recommandée de 20 mg/kg et les 7 autres ont été traités par deux injections à 24 heures d'intervalle d'une formulation S.A. d'OTC à 10 % à la dose de 10 mg/kg. Les animaux ont tous été guéris à l'exception d'un veau du deuxième groupe qui est mort, indiquant une légère supériorité du traitement à base de la formulation L.A. (83).

Chez 14 veaux atteints de pneumonie à *Pasteurella multocida* et âgés d'un à deux mois, l'équivalence thérapeutique par voie i.m. a également été prouvée entre un premier traitement constitué de l'injection unique de T.L.A. ND à la dose de 19.8 mg/kg et un second traitement composé de deux injections d'une formulation S.A. d'OTC à 5 % à la dose de 11 mg/kg. Les

deux traitements ont permis une guérison rapide des veaux tandis que dans le même temps, 2 des 4 veaux non traités sont morts (19).

III.3.2. DONNEES CHEZ LE MOUTON

La courbe des concentrations plasmatiques d'OTC L.A. administrée par voie i.m. chez le mouton est généralement décrite mathématiquement par une équation bi-exponentielle (42,104) reflétant un modèle bi-compartmental.

Une étude a déterminé les principaux paramètres PK de la T.L.A.ND administrée par voie i.m. chez le mouton à la dose de 20 mg/kg. La biodisponibilité musculaire est de 90 %, le temps de demi-vie plasmatique est de 29.6 h, le pic des concentrations plasmatiques (atteint 2 heures après l'administration) est de 3.6 µg/mL et les concentrations plasmatiques sont maintenues au-dessus de 0.75 µg/mL pendant 48 heures (104). Pour comparaison, avec une formulation utilisant la PVP comme principal excipient administrée à la dose de 10 mg/kg, les concentrations plasmatiques sont d'environ 0.63 µg/mL au bout de 32 heures (64). D'autres études de PK ont été menées afin de vérifier les paramètres publiés de la T.L.A.ND. Les différents temps de demi-vie plasmatique ont été de 19.6 h (10), 20.9 h (d'après un modèle mono-compartmental (32)), 28 ± 9.1 h (42) ; les volumes de distribution ont été de 3 ± 0.8 (32) et 7 ± 1.7 L/kg (42) ; les clairances plasmatiques totales ont été de 1.7 ± 0.30 (32) et 3.1 ± 0.52 mL/min/kg (42) ; enfin, les concentrations plasmatiques ont été maintenues au-dessus de 0.5 µg/mL pendant 56 heures (65).

D'autres formulations L.A. utilisées à la dose de 20 mg/kg ont été administrées par voie i.m. chez le mouton. Des temps de demi-vie plasmatique d'environ 38 et 41 h ont été trouvés pour deux formulations différentes (90).

La bioéquivalence entre la T.L.A.ND et une autre formulation L.A. à tester (TENALINEND L.A. Bovins – Porcins, SANOFI, France) à la dose de 20 mg/kg et par voie i.m. a été démontrée pour l'ensemble des paramètres PK requis dans les lignes directrices (58). Les C_{\max} obtenus ont été de 7.2 ± 1.75 et 5.8 ± 0.84 µg/mL, les T_{\max} ont été de 1.9 ± 0.77 et 2.2 ± 1.39 h et les AUC ont été de 162.5 ± 13.22 et 151.1 ± 10.44 µg.h/mL, respectivement pour la T.L.A.ND et la nouvelle formulation (seuil de signification statistique de 5 %).

**DEUXIEME PARTIE : DONNEES
EXPERIMENTALES**

I. PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS

Au cours d'un essai préliminaire, le calcul de la biodisponibilité musculaire de la T.L.A.ND a nécessité l'injection de ce produit par voie i.v. à cinq brebis (à la dose de 20 mg/kg). La clairance totale moyenne calculée (par une approche non-compartmentale) a été de **0.5 ± 0.26** mL/min/kg. Les valeurs des clairances de l'OTC rapportées dans la littérature sont comprises chez le mouton entre **1.2 et 4.7** mL/min/kg (formulations S.A., tableau 4). Une autre brebis a reçu les deux formulations d'OTC à la dose de 20 mg/kg par voie i.v. pour confirmer ce résultat. La clairance totale moyenne a été de **0.65** mL/min/kg pour la T.L.A.ND contre **1.6** mL/min/kg pour la formulation S.A. Il est possible que cette différence de clairance observée entre les formulations S.A. et L.A. soit due à la nature des excipients associés à l'OTC. Les excipients présents dans les deux formulations diffèrent majoritairement par la présence de 2-P dans la T.L.A.ND

L'objectif de ce travail de thèse était donc d'étudier les effets de la 2-P sur les paramètres PK de l'OTC injectée par voie i.v. chez le mouton.

Cette étude est considérée comme l'étude 5. En effet, quatre études préliminaires ont été nécessaires :

1. Evaluation de la tolérance de la 2-P administrée par voie i.v.

La plupart des excipients contenus dans les formulations d'OTC comme la PVP (108), le N,N-diméthylacétamide (105) ou le propylène glycol (57) sont connus pour avoir des effets cardiovasculaires potentiellement graves (56). Une étude décrit un cas d'hémoglobinurie chez trois vaches dont l'origine serait l'administration d'une formulation L.A. à base de 2-P (8) (cf. supra). Pour autant, aucune donnée toxicologique concernant la 2-P administrée par voie i.v. chez le mouton n'était disponible. L'objectif de cette première étude a donc été de vérifier que la 2-P était bien tolérée par voie i.v. chez les ovins, et qu'elle ne conduisait pas à des effets secondaires pouvant modifier les données PK ou conduire à la mort de l'animal (rendant alors inutilisable un plan d'essai croisé ou « crossover »).

2. Détermination de la dose d'OTC restant dans l'espace mort du cathéter après administration.

Le calcul des paramètres PK exige de connaître la dose réellement injectée à l'animal. Dans le cas d'études avec administration du principe actif par voie i.v. à l'aide d'un cathéter, le

produit est susceptible d'être piégé dans deux éléments physiques. Le premier correspond à la seringue contenant le traitement. A la fin de l'administration, celle-ci contient une quantité parfois non négligeable de produit qui n'a pas été injecté. Cette quantité est cependant quantifiable de façon exacte grâce à la méthode de double pesée des seringues (avant et après administration). Le deuxième élément est le cathéter lui-même. L'objectif de cette deuxième étude a donc été de quantifier la dose restant dans l'espace mort des cathéters une fois l'administration effectuée.

3. Evaluation de la durée de la période de « washout » nécessaire entre deux périodes consécutives.

Pour pouvoir interpréter des résultats obtenus par un plan d'étude de type crossover, il est important de respecter entre les différentes séries de cinétiques, des périodes de « lavage » ou « washout ». Ces « temps d'attente » permettent à l'animal d'éliminer entièrement le produit qu'il a reçu lors de la période précédente. Ils évitent ainsi les effets de « carry-over » dus à un effet de la séquence qui fausseraient les résultats PK. La durée des périodes de « washout » varie selon les auteurs en fonction de la formulation d'OTC (S.A. ou L.A.) et de la voie d'administration (i.m. ou i.v.) utilisées. Elle peut-être d'environ 1 semaine (28,38,58,64), d'au moins 2 semaines (36,87,121,122,128) ou de plus de 3 semaines (9,85,88). L'objectif de cette troisième étude a donc été de déterminer la durée de la période de « washout » retenue pour l'étude 5.

4. Vérification de la stabilité de l'OTC dans le sang total en fonction de la température de conservation et du délai de centrifugation après prélèvement.

La CTC est instable aux pH neutre et alcalin. En effet, la présence de l'atome de chlore (au niveau du C₇) provoque une interaction entre le C₁₁ et l'oxygène de la fonction hydroxyle du C₆ avec formation d'un pont lactone. La molécule obtenue est l'iso-CTC, microbiologiquement inactive (115). Dans des conditions acides, une telle interaction chimique peut avoir lieu au sein de l'OTC (entre le C₁₂ et le groupe hydroxyle du C₅) avec formation de l'apo-OTC. Par ailleurs, on a montré que l'OTC était instable dans le plasma conservé pendant des temps importants à 5°C (dégradation de 10 % de la molécule au bout de 28 jours, dont 5 % après 4 jours). Cette instabilité est encore plus marquée dans les urines (dégradation de 34 % de la molécule au bout de 28 jours dont 30 % après 10 jours) (77). Les auteurs ne précisent jamais le temps qu'ils ont mis pour centrifuger leurs prélèvements, ni les conditions de conservation pendant ce délai. Par conséquent, il semblait important de vérifier

premièrement, si cette dégradation intervenait également dans le sang total et, deuxièmement, si la conservation dans de la glace pilée pouvait la prévenir. Cette vérification n'était nécessaire que durant les premières 24 heures après prélèvement, un délai plus important avant centrifugation étant déraisonnable. Notre hypothèse était que l'OTC subissait dans le sang total une dégradation progressive par rupture des cycles carbonés. Ce phénomène, selon son intensité, aurait pu conduire à une sous-estimation des concentrations d'OTC effectivement dosées dans le plasma obtenu après centrifugation du sang total. L'objectif de cette quatrième étude a donc été de documenter chez le mouton l'effet, sur la stabilité de l'OTC dihydrate, du délai de centrifugation et de la température de conservation du sang total après prélèvement sur héparinate de lithium.

II. MATERIELS ET METHODES

II.1. ETUDE 1 : TOLERANCE AIGUE DE LA 2-PYRROLIDONE

Une brebis de 35 kg a reçu 5 mL de 2-P en bolus par voie i.v., soit 2 fois la dose maximale prévue dans notre étude (traitement 4, cf. infra). Cette brebis a été observée cliniquement de façon régulière (environ toutes les 3 heures) le jour de l'administration et trois fois par jour les deux jours suivants.

II.2. ETUDE 2 : DOSE RESIDUELLE INTRA-CATHETER

On a fait transiter successivement à travers un cathéter 8 mL d'OTC, 2.9 mL de 2-P et 1.9 mL de chlorure de sodium isotonique à 0.9 % (NaCl) (volumes correspondant à une brebis pesant 40 kg recevant le traitement 4 (cf. infra) pour lequel la quantité de NaCl servant au rinçage est minimale). Enfin, 1.5 mL de NaCl ont servi à rincer le cathéter et ont été récupérés puis dosés afin d'en déduire le pourcentage d'OTC restée dans le cathéter par rapport à la quantité injectée. Le cathéter utilisé a été un cathéter jugulaire HEMOCATH 30 (référence 143.15, VYGON, Ecoen, France) comportant un espace mort de 0.35 mL environ.

II.3. ETUDE 3 : DUREE DE LA PERIODE DE «WASHOUT»

Une brebis de 35 kg a reçu par voie i.v. le traitement 4 dans les mêmes conditions expérimentales que celles prévues dans l'étude 5 (cf. infra). Des prélèvements sanguins ont été réalisés toutes les 24 heures puis dosés, jusqu'à descendre en dessous de la limite de quantification de la méthode analytique (LOQ) qui est pour notre étude de 0.35 µg/mL.

II.4. ETUDE 4 : STABILITE DE L'OTC DANS LE SANG TOTAL

II.4.1. ANIMAUX ET PRODUITS

Deux brebis adultes de race Lacaune (A et B) achetées chez M. Moliano (route de Bonrepos, Fontenilles, Haute-Garonne) ont été utilisées. Elles ont été logées dans des cages à métabolisme au sein de l'animalerie du service de physiologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse et ont été nourries avec du fourrage *ad libitum* complémenté par 250 g d'un aliment concentré (RUMINA Broutard, PURINA, France). L'eau était disponible *ad libitum*.

Les produits testés étaient deux préparations commerciales injectables d'OTC identiques à celles utilisées dans l'étude 5 : de l'*Oxytétracycline 10% VETOQUINOLND (OTC 10 %)*, administrée à la brebis A et de la *TERRAMYCINE Longue ActionND*, administrée à la brebis B.

II.4.2. ADMINISTRATIONS ET PRELEVEMENTS

Les solutions ont été administrées sous forme de bolus par voie i.v. au moyen d'un cathéter vasculaire extemporané, placé avant l'administration dans la veine jugulaire droite. La dose a été fixée pour les deux produits à 20 mg/kg, soit 0.2 mL de solution par kg de poids vif pour l'OTC 10 % et 0.1 mL de solution par kg de poids vif pour la T.L.A.ND

Les prélèvements sanguins, d'un volume de 20 mL chacun, ont été effectués à 2 minutes puis à 4 et 24 heures après administration. Le sang a été prélevé dans la veine jugulaire gauche au moyen d'une aiguille (21G, 40 mm) et d'une seringue de 20 mL. Après homogénéisation par retournements manuels lents de la seringue, six fractions d'environ 3 mL chacune ont été réparties dans six tubes de 5 mL contenant une solution d'héparinate de lithium.

II.4.3. PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Les prélèvements ont été traités comme suit :

La fraction 1 a été placée dans de la glace pilée et centrifugée 30 minutes après le prélèvement,

La fraction 2 a été placée à l'air ambiant et centrifugée 30 minutes après le prélèvement,

La fraction 3 a été placée dans la glace pilée et centrifugée 5 heures après le prélèvement,

La fraction 4 a été placée à l'air ambiant et centrifugée 5 heures après le prélèvement,

La fraction 5 a été placée dans la glace pilée et centrifugée 24 heures après le prélèvement,

La fraction 6 a été placée à l'air ambiant et centrifugée 24 heures après le prélèvement.

Les prélèvements conservés dans de la glace pilée ont été stockés aussitôt après leur obtention. Les prélèvements conservés à l'air ambiant ont été stockés dans une pièce à température constante (21°C). Les conditions de centrifugation ont été les mêmes pour tous les prélèvements (3080 g pendant 10 minutes).

Le plasma obtenu pour chaque fraction a été aliquoté immédiatement après la centrifugation dans deux tubes eppendorf de 1.5 mL et conservé à -20°C jusqu'à analyse.

II.4.4. PHASE ANALYTIQUE ET ANALYSE DES DONNÉES

L'OTC a été dosée dans le plasma selon la méthode HPLC développée par l'unité, validée et également utilisée lors de l'étude 5 (cf. infra).

La variation des concentrations plasmatiques en OTC mesurées dans les fractions « n » (2, 3, 4, 5 et 6) par rapport aux concentrations mesurées dans la fraction 1 (correspondant aux conditions optimales) a été estimée pour chacun des temps de prélèvement par l'équation :

$$\text{Variation } \Delta (\%) = [(\text{fraction } n - \text{fraction } 1) / \text{fraction } 1] \times 100$$

II.5. ETUDE 5 : EFFETS DE LA 2-PYRROLIDONE SUR LES PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES DE L'OTC INJECTEE PAR VOIE I.V. CHEZ LE MOUTON

II.5.1. ANIMAUX

L'étude a été menée sur 12 brebis de race Lacaune, âgées de 7 à 9 ans, pesant entre 39 et 56 kg, identifiées par leur bouclage à l'oreille et achetées chez M. Moliano (route de Bonrepos, Fontenilles, Haute-Garonne). Ces brebis étaient non gravides (vérification par échographie et injection à leur arrivée de prostaglandines ENZAPROST[®] par voie i.m. dans le triceps brachial droit à la dose de 0.5 mL/brebis), cliniquement saines et indemnes de Brucellose (recherche par sérologie). Les animaux ont été logés au sein du service de physiologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. La période d'acclimatation a duré 3 semaines, deux semaines en parc puis la dernière semaine dans les cages à métabolisme. Leur alimentation quotidienne se composait de fourrage *ad libitum* complété par un aliment concentré (250 g de RUMINA Broutard, PURINA, France) distribué le matin (y compris les jours de cinétique). L'eau était disponible *ad libitum*. Leur état général ainsi que leur comportement alimentaire et hydrique ont été contrôlés quotidiennement. Pendant toute la durée de l'étude, les animaux n'ont reçu aucun traitement autre que ceux étudiés.

Les brebis ont été pesées selon la procédure en cours dans l'unité à leur arrivée (P0), la veille de chaque début de période (P1, P2, P3, P4), à la fin du crossover (P5) et deux semaines plus tard (P6, poids mesuré pour l'injection d'OTC L.A.).

Elles ont été divisées de façon randomisée en fonction du poids vif en quatre groupes de trois animaux (annexes 1, 2, et 3) : le groupe 1 avec les animaux A,B,C, le groupe 2 avec les animaux D,E,F, le groupe 3 avec les animaux G,H,I, et le groupe 4 avec les animaux J,K,L.

Cependant, l'administration du premier traitement à la brebis I ayant été réalisée en partie hors de la veine, cette dernière a été remplacée pour toutes les cinétiques par une brebis annexe (brebis M, Numéro de travail 240).

II.5.2. PRODUITS

Les traitements testés étaient tous composés d'une préparation commerciale d'OTC S.A. : Oxytétracycline 10 % VETOQUINOLND (VETOQUINOL SA, 70 204 Lure, France). Cette préparation est une solution injectable stable contenant de l'OTC sous forme de dihydrate à 10 millions U.I. pour 100 mL et différents excipients dont de la PVP. Pour la réalisation des expérimentations, quatre flacons de 250 mL de solution de couleur jaunâtre appartenant au même lot (numéro de lot : 00 69, date de péremption : 05/02) ont été utilisés et conservés à température ambiante, à l'abri de la lumière. La dose utilisée a été de 20 mg/kg soit 10 mL/50kg.

L'excipient étudié est la 2-PYRROLIDONE. Pour la réalisation des expérimentations, un flacon d'un litre de solution incolore et pure à 99 % (contenant 1.11g de 2-P par mL de solution) a été utilisé et conservé dans un contenant étanche placé à température ambiante (référence 83 300, FLUKA, Saint-Quentin Fallavier, France ; numéro de lot : 400915/1 13700). Le produit étant toxique (cf. supra), sa manipulation a été faite dans une pièce ventilée, en évitant tout contact de la solution avec la peau ou les yeux.

Les traitements testés ont consisté en l'administration successive de 2-P à différentes concentrations, d'OTC 10 % et de NaCl. Quatre traitements d'un volume total constant de 16 mL ont été administrés :

- Traitement 1 (T1) : Solution d'OTC 10 % suivie de NaCl (Traitement témoin),
- Traitement 2 (T2) : 2-P (1 g pour 1 g d'OTC) suivie d'OTC 10 % et de NaCl,
- Traitement 3 (T3) : 2-P (2 g pour 1 g d'OTC) suivie d'OTC 10 % et de NaCl,
- Traitement 4 (T4) : 2-P (4 g pour 1 g d'OTC) suivie d'OTC 10 % et de NaCl,

A titre d'exemple, les volumes suivants correspondent aux traitements administrés à une brebis pesant 50 kg.

- *T1 : 10 mL d'OTC 10 % + 6 mL de NaCl,*
- *T2 : 0.9 mL de 2-P + 10 mL d'OTC 10 % + 5.1 mL de NaCl,*
- *T3 : 1.8 mL de 2-P + 10 mL d'OTC 10 % + 4.2 mL de NaCl,*
- *T4 : 3.6 mL de 2-P + 10 mL d'OTC 10 % + 2.4 mL de NaCl.*

Deux semaines après la fin du crossover, un cinquième traitement composé d'OTC L.A. (T.L.A. ND, PFIZER S.A.) appartenant au lot 0029003 (date de péremption : 04/02) a été administré à la dose de 20 mg/kg afin de comparer les résultats obtenus avec ceux des cinétiques précédentes.

Les quantités exactes des produits administrés aux brebis sont présentées dans l'annexe 4.

II.5.3. ADMINISTRATIONS

Les administrations des traitements ont été réalisées par voie i.v. en bolus (durée d'environ 40 secondes pour la totalité des produits) au moyen de cathéters vasculaires permanents HEMOCATH 30 (référence 143.15, VYGON, Ecoen, France) placés la veille des administrations dans la veine jugulaire droite et retirés après chaque série de prélèvements. Avant de placer les cathéters, une tonte des gouttières jugulaires ainsi qu'un nettoyage à l'alcool à 70° et à la chlorexidine ont été réalisés. Les produits ont été prélevés des flacons avec des seringues équipées d'aiguilles (18G x ½'') et administrés aux brebis sans enlever le bouchon des cathéters.

Les administrations ont été pratiquées le premier jour des 4 périodes (d'une durée de 1 semaine chacune) en suivant un crossover équilibré (annexe 5).

Pour être certain de la dose réellement injectée, des doubles pesées des seringues contenant l'OTC et des aiguilles ont été réalisées, avant puis après administration du produit (annexe 7).

II.5.4. PRELEVEMENTS SANGUINS

Les prélèvements (5 mL environ) ont été effectués dans une seringue de 5 mL au moyen de cathéters permanents HEMOCATH 30 (référence 143.15, VYGON, Ecoen, France) placés la veille des prélèvements dans la veine jugulaire gauche et retirés après chaque période (temps 72 heures). Le sang prélevé a été aussitôt placé dans un tube hépariné de 5 mL stocké dans de la glace puis rapidement centrifugé (3080 g pendant 10 minutes). Le plasma a été aliquoté

dans 2 tubes eppendorf de 1.5 mL, puis conservé à -20°C jusqu'à l'analyse. Les opérateurs qui ont administré les produits n'ont pas réalisé les prélèvements.

Avant chaque prélèvement, un volume d'environ 1 mL de sang a été aspiré et ensuite éliminé afin de vidanger l'espace mort des cathéters. Après chaque prélèvement, un volume d'environ 2,5 mL de NaCl hépariné (à 50 U.I. d'héparine par mL de sérum) a été injecté afin de rincer les cathéters.

Les prélèvements ont eu lieu à -25, 1, 2, 4, 8, 15 et 30 minutes puis à 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 34, 48 et 72 heures post administration. Après les prélèvements à 12, 24, 34 et 48 heures, environ 0.3 mL d'héparine pure a été injecté dans les cathéters destinés aux prélèvements.

II.5.5. METHODE ANALYTIQUE

Le dosage de l'OTC a été réalisé par HPLC après extraction sur cartouches C8 (Bond Elut 100 mg, VARIAN). Les cartouches ont été préalablement conditionnées avec 1 mL de méthanol et 1 mL d'acide oxalique. L'extraction a été composée par le dépôt de 250 µL d'échantillon à doser et de 125 µL de Standard Interne (SI, 3-acétamidophénol à 10 µg/mL), puis le lavage avec 500 µL d'eau distillée et l'élution avec 500 µL d'un mélange d'acide oxalique et d'acétonitrile (75/25, V/V).

Vingt microlitres de la solution obtenue après extraction ont été injectés dans le système HPLC composé d'une pompe isocratique (KONTRON 325), d'un automate (KONTRON 465) et d'un détecteur d'Ultra Violet (KONTRON 432) réglé à 270 nm. La séparation a été effectuée avec un débit de 0.4 mL/min à 40°C sur une précolonne Ultrasep ES 100 RP 18 et une colonne Nucléosil C18 100-3, 3µm (150 x 4.0 mm). Le solvant éluant a été un mélange d'acide oxalique 0.01 M et d'acétonitrile (85/15, V/V).

Une série de dosage a été composée des dosages successifs de la solution de SI (sans étape d'extraction), des points de gamme dans le plasma (après extraction), des 3 points de Contrôle Qualité ou QC (après extraction) et des échantillons de plasma à doser (après dilution et extraction).

Pour les calculs, l'aire du SI obtenue sans extraction a servi de référence pour tous les calculs de rendement d'extraction. Une régression multiple (logiciel STATGRAPHICS®, version 5, STSC, Inc.) a été réalisée pour les points de gamme. Une droite de la forme $Y = a x + b$ a été

obtenue, Y représentant le ratio (aire_{OTC} / aire_{SI}) et x la concentration théorique d'OTC. La gamme a été acceptée si les écarts entre les concentrations théoriques et les concentrations calculées par la droite de régression ont été inférieurs à 15 %. Un facteur de pondération de $1/x^2$ a été choisi.

La limite de quantification de la méthode a été de 0.35 µg/mL et les coefficients de variation de répétabilité (intrajour) et de reproductibilité (interjour) ont été inférieurs à 15%.

II.5.6. ANALYSE PHARMACOCINETIQUE

Pour les cinq traitements, la courbe des concentrations plasmatiques d'OTC en fonction du temps a été tracée. Les paramètres PK primaires et secondaires ont été calculés par une approche non-compartmentale avec un logiciel de régression non linéaire (WinNONLIN®, version 1.1, Scientific Consulting, Inc.).

Les aires sous la courbe (AUC) ont été calculées par la méthode des trapèzes arithmétiques avec extrapolation à l'infini. Le nombre de points considérés pour estimer l'aire extrapolée a été choisi par le logiciel. Cependant, si le pourcentage d'extrapolation était alors supérieur à 15 %, nous avons refait l'analyse en indiquant au logiciel le nombre de points qu'il devait considérer pour estimer l'aire extrapolée.

La clairance plasmatique totale et le volume de distribution à l'état d'équilibre de l'OTC ont été donnés par les équations suivantes :

$$Cl = \frac{\text{Dose}}{\text{AUC}} \quad (\text{mL}/\text{min}/\text{kg}) \quad \text{et} \quad V_{ss} = Cl \times \text{MRT} \quad (\text{L}/\text{kg})$$

avec MRT (min) : Temps moyen de résidence (AUMC/AUC).

II.5.7. ANALYSE STATISTIQUE

L'analyse statistique a été pratiquée par comparaison des deux principaux paramètres PK obtenus (Clairance plasmatique et Volume de distribution) pour les quatre traitements avec une analyse de variance multifactorielle (ANOVA) à l'aide d'un logiciel spécialisé (SYSTAT®, version 8.0, SPSS, Inc.). Cette analyse a permis de discerner dans l'écart observé la part due à la période, à la séquence, au traitement et à l'animal.

La modélisation des paramètres PK a été la suivante :

$$P_{i,j,k,l} = \mu + S_i + P_j + T_k + A_l/S_i + \epsilon_{i,j,k,l}$$

Avec :

$P_{i,j,k,l}$: paramètre PK (Clairance ou Volume de distribution) d'un animal l appartenant à la séquence i, à la période j et recevant la formulation k,

μ : valeur moyenne générale du paramètre PK, estimée par la moyenne de toutes les valeurs de ce paramètre quel que soit l'animal, la séquence, la période et le traitement,

S_i : effet différentiel de la séquence i,

P_j : effet différentiel de la période j,

T_k : effet différentiel du traitement k,

A_l/S_i : effet différentiel de l'animal l (niché dans la séquence i),

$\epsilon_{i,j,k}$: effet résiduel.

Les résultats observés avec les quatre traitements ont été comparés à ceux obtenus avec l'utilisation de T.L.A.ND (Traitement 5) grâce à une deuxième ANOVA (ne tenant plus compte de l'effet période et de l'effet séquence).

La modélisation des paramètres PK a alors été la suivante :

$$P_{k,l} = \mu + T_k + A_l + \epsilon_{k,l}$$

Dans le cas d'un effet significatif du traitement, un test de comparaisons multiples (Test de DUNNETT) a été réalisé.

Le seuil de signification statistique a été de 5% pour les deux analyses.

III. RESULTATS

III.1. ETUDE 1 : TOLERANCE AIGUE DE LA 2-PYRROLIDONE

Aucun signe secondaire clinique n'a été observé suite à l'administration par voie i.v. de l'excipient. Ce résultat ne démontre pas rigoureusement l'innocuité de la 2-P chez la brebis mais il nous a permis de considérer que la tolérance de l'administration de ce produit par voie i.v. était acceptable.

III.2. ETUDE 2 : DOSE RESIDUELLE INTRA-CATHETER

La concentration d'OTC restée dans le cathéter a pu être déterminée par le dosage du liquide récupéré (1.5 mL) ; elle a été de 1633.5 µg/mL soit 2.4 mg *in toto* ce qui représente 0.3 % de la dose administrée (8 mL à 10g/100mL soit 800 mg). Etant donné ce faible pourcentage, la quantité d'OTC restant dans le cathéter a été considérée comme négligeable lors des dosages.

III.3. ETUDE 3 : DUREE DE LA PERIODE DE «WASHOUT»

A partir du quatrième jour, la concentration d'OTC présente dans les échantillons sanguins n'a plus été quantifiable, c'est à dire inférieure à 0.35 µg/mL. Pour plus de sécurité, une durée de la période de « washout » d'une semaine a été choisie.

III.4. ETUDE 4 : STABILITE DE L'OTC DANS LE SANG TOTAL

Le tableau 8 et les figures 6 et 7 présentent les résultats des concentrations obtenues pour l'OTC 10 % (brebis A) et la T.L.A.ND (brebis B) en fonction du délai de centrifugation et de la température de conservation pour les 3 temps de prélèvements. L'inspection visuelle de ces figures montre que la température de conservation de l'échantillon (+ 4°C ou 21 °C) et le délai de centrifugation n'ont pas d'effet sur la concentration d'OTC.

Les variations des concentrations observées pour les fractions n par rapport aux concentrations obtenues avec la fraction 1 en fonction de la formulation d'OTC et des temps de prélèvement sont présentées dans l'annexe 6. Le pourcentage de variation a fluctué entre - 19 et + 25 %, avec une moyenne de 8.37 %.

L'OTC peut donc être considérée comme stable dans le sang total conservé dans de la glace pilée ou à l'air ambiant jusqu'à 24 heures avant centrifugation. Un délai maximum de 30 minutes pour la centrifugation a cependant été respecté pour l'essentiel des prélèvements, avec une conservation à environ + 4°C.

Tableau 8 : Concentrations ($\mu\text{g/mL}$) obtenues pour l'OTC 10 % (brebis A) et la T.L.A.ND (brebis B) en fonction du délai de centrifugation et de la température de conservation pour 3 temps de prélèvements

FRACTIONS									
PRELEVEMENTS	TEMPS (MIN)	1	2	3	4	5	6	Moyenne \pm SD	CV (%)
A1	2	754.9	716.0	759.1	731.3	670.6	697.7	721.6 \pm 34.11	4.7
A2	240	25.5	22.6	20.6	24.5	29.5	27.8	25.1 \pm 3.27	13
A3	1440	1.7	2.0	1.9	2.1	2.0	2.2	2.0 \pm 0.16	8
B1	2	638.1	698.1	711.5	645.5	667.9	660.6	670.3 \pm 29.05	4.3
B2	240	28.9	30.4	29.7	28.4	30.2	32.4	30.0 \pm 1.39	4.6
B3	1440	5.4	5.0	5.7	5.3	5.7	5.7	5.4 \pm 0.29	5.4

Les fractions 1,3 et 5 ont été conservées dans de la glace pilée,

Les fractions 2,4 et 6 ont été conservées à l'air ambiant,

Les fractions 1 et 2 ont été centrifugées 30 minutes après prélèvement,

Les fractions 3 et 4 ont été centrifugées 5 heures après prélèvement,

Les fractions 5 et 6 ont été centrifugées 24 heures après prélèvement.

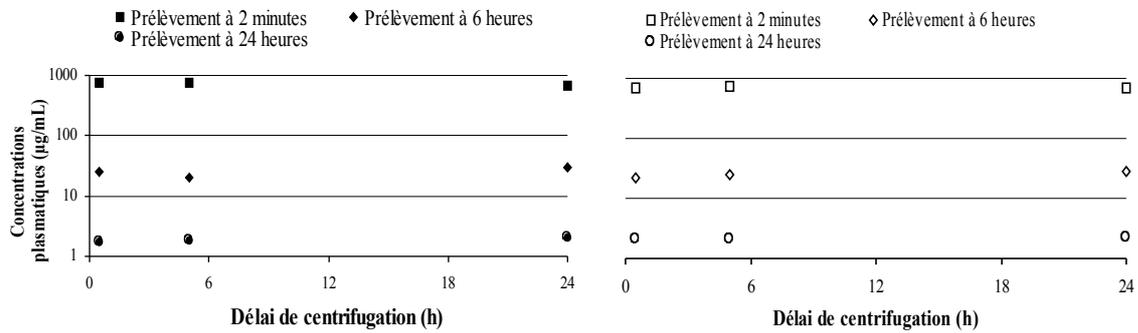


Figure 6 : Représentation graphique semi-logarithmique des concentrations plasmatiques d’OTC obtenues chez la brebis A (OTC 10 %) en fonction du délai de centrifugation et de la température de conservation

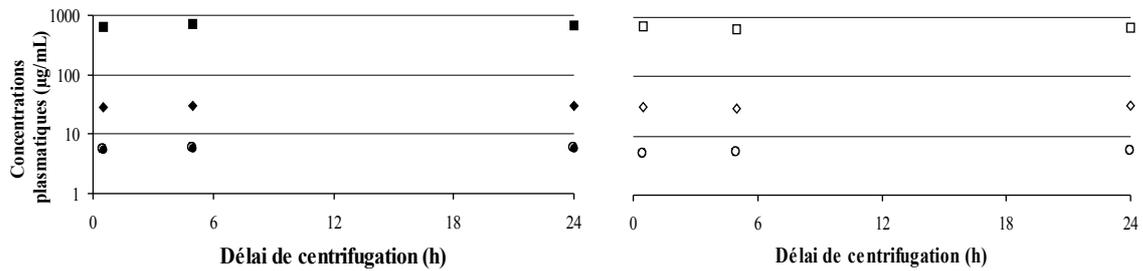


Figure 7 : Représentation graphique semi-logarithmique des concentrations plasmatiques d’OTC obtenues chez la brebis B (T.L.A. ND) en fonction du délai de centrifugation et de la température de conservation

III.5. ETUDE 5 : EFFETS DE LA 2-PYRROLIDONE SUR LES PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES DE L'OTC INJECTEE PAR VOIE I.V. CHEZ LE MOUTON

La présence d'une toux faisant suite à l'administration des traitements a parfois été observée. Cette toux s'est manifestée à quatre reprises (sur les 60 administrations) et a concerné par deux fois la même brebis. Elle est apparue une fois avec le traitement 3 et trois fois avec le traitement 4 (traitement composé de la quantité de 2-P la plus importante).

Les courbes en échelle semi-logarithmique des concentrations plasmatiques moyennes d'OTC (pour les 12 brebis) en fonction du traitement sont tracées sur la figure 8 (les moyennes et écart-types calculés figurent dans le tableau 29, annexe 8).

ockage à l'air ambiant

Les tableaux 17 à 28 (annexe 7) indiquent les doses exactes administrées et les concentrations plasmatiques mesurées chez toutes les brebis pour chaque temps de prélèvement, pour les cinq traitements.

Les figures 9, 10, 11 et 12 (annexe 7) sont des représentations graphiques en échelle semi-logarithmique des concentrations plasmatiques d'OTC obtenues chez les brebis pour les cinq traitements. L'examen de ces courbes révèle pour la T.L.A.ND (traitement 5) l'existence pour la plupart des brebis d'un effet rebond (se produisant le plus souvent entre 5 et 10 heures) ou d'un effet plateau. De plus, les concentrations plasmatiques obtenues avec ce traitement sont en général supérieures à celles observées avec les autres traitements.

La moyenne pour les 12 brebis des principaux paramètres PK est présentée en fonction du traitement dans le tableau 9. Les tableaux 30 et 31 (annexe 9) présentent les valeurs individuelles de ces paramètres.

Les AUC plasmatiques sont supérieures pour le traitement 5 (T.L.A.ND, environ 550 µg.h/mL). Pour les autres traitements, elles diminuent depuis le traitement 1 (environ 450 µg.h/mL) jusqu'au traitement 4 (330 µg.h/mL).

Les clairances plasmatiques totales de l'OTC sont proches pour tous les traitements et elles varient de 1.13 mL/min/kg pour le traitement 4 à 0.7 mL/min/kg pour le traitement 5. L'analyse statistique montre les résultats suivants : **les clairances obtenues avec les**

traitements 1, 2, 3, 4 ne sont pas significativement différentes entre elles ; la clairance observée avec le traitement 5 (T.L.A.ND) est significativement différente de celles obtenues avec les traitements 2, 3, et 4 (P = 0.010, P = 0.006, P = 0.000 respectivement) ; la clairance observée avec le traitement 5 n'est par contre pas significativement différente de celle obtenue avec le traitement 1 (OTC 10 %) (P = 0.102).

Les volumes de distribution à l'état d'équilibre (V_{ss}) de l'OTC sont très proches pour tous les traitements (compris entre 0.35 et 0.53 L/kg). Les volumes de distribution apparents (V_{area}) de l'OTC sont également en moyenne de 0.4 L/kg. Après transformation logarithmique des données, l'analyse statistique montre que **les volumes de distribution des 5 traitements ne sont pas significativement différents entre eux.**

L'analyse statistique des deux paramètres PK est présentée dans l'annexe 10.

Tableau 9 : Paramètres PK (Moyenne \pm SD) de l'OTC administrée par voie i.v. à 12 brebis (dose de 20 mg/kg) en fonction du traitement

TRAITEMENT	AUC ($\mu\text{g.h/mL}$)	Cl (mL/min/kg)	V _{ss} (L/kg)
1	443.7 \pm 191.64	0.92 \pm 0.369 ^{ab}	0.42 \pm 0.126 ^c
2	385.9 \pm 159.8	1.02 \pm 0.317 ^a	0.35 \pm 0.096 ^c
3	339.5 \pm 106.28	1.19 \pm 0.616 ^{a *}	0.45 \pm 0.188 ^c
4	330.8 \pm 86.48	1.13 \pm 0.293 ^a	0.53 \pm 0.279 ^c
5	546.6 \pm 217.94	0.7 \pm 0.22 ^b	0.39 \pm 0.069 ^c

* La clairance d'une brebis ayant reçu le traitement 3 a été détectée comme étant une valeur aberrante (annexe 10). Ainsi si on remplace cette valeur par la valeur prédite par le modèle d'analyse statistique, la moyenne du paramètre clairance plasmatique est pour le traitement 3 de 1.04 mL/min/kg

Au sein des colonnes « clairance » et « volume de distribution » (l'analyse statistique n'étant pas nécessaire pour le paramètre AUC), les valeurs comportant des lettres en exposant différentes sont significativement ($P < 0.05$) différentes.

Traitement 1 : OTC 10 % + NaCl

Traitement 2 : OTC 10 % + 2-P (1:1) + NaCl

Traitement 3 : OTC 10 % + 2-P (1:2) + NaCl

Traitement 4 : OTC 10 % + 2-P (1:4) + NaCl

Traitement 5 : T.L.A.ND

IV. DISCUSSION

Les principaux résultats de ce travail de thèse ont été les suivants :

- L'administration d'OTC et de 2-P par voie i.v. ne produit pas d'effets indésirables chez le mouton,
- Une période de « washout » d'une semaine entre les administrations d'une formulation S.A. par voie i.v. à la dose de 20 mg/kg à des brebis est suffisante,
- L'OTC est stable sur 24 heures dans un prélèvement de sang total sur héparinate de lithium quelque soit le délai de centrifugation et la température de conservation des échantillons sanguins,
- L'addition de quantités croissantes de 2-P n'influence pas la PK de l'OTC (par comparaison avec la formulation S.A.),
- Les paramètres PK (Cl , V_{ss}) des formulations S.A. et L.A. d'OTC ne sont pas statistiquement différents pour une administration par voie i.v.,
- Enfin, la présence de 2-P avec la formulation S.A. induit une clairance plasmatique de l'OTC plus importante par rapport à la formulation L.A.

Aucun effet indésirable n'a été observé au cours des administrations, à l'exception d'un épisode de toux survenu à 4 reprises. Après une administration par voie i.v., le poumon, suite à un effet de premier passage, reçoit la totalité de la dose administrée. Une précipitation *in situ* du produit injecté ne peut donc pas être exclue.

La période de « washout » d'une semaine retenue pour notre étude a permis d'éviter les phénomènes de « carry-over » différentiel, c'est à dire que le traitement n-1 n'a pas modifié la réponse observée au traitement n (effet séquence non significatif, $P = 0.05$). Si l'on considère un temps de demi-vie plasmatique moyen de 7 heures pour l'OTC (moyenne des valeurs publiées), cette période d'une semaine correspond à 24 fois le temps de demi-vie, ce qui sous-entend une élimination du principe actif quasi totale. Ceci est cohérent avec les périodes choisies pour des études antérieures ayant administré de l'OTC par voie i.v. (38). Par voie i.m., l'existence d'un « flip-flop » (constante d'élimination très supérieure à la constante

d'absorption de l'OTC) a contraint les auteurs à retenir des périodes de « washout » plus longues (2 semaines en général mais pouvant parfois aller jusqu'à trois semaines (28,58,64)).

Aucune dégradation de l'OTC n'intervient pour des prélèvements de sang total sur anticoagulant conservés à 21°C pendant 24 heures. La seule étude ayant précédemment étudié la stabilité de l'OTC dans les matrices biologiques avait utilisé du plasma et des urines conservés à 5°C pendant des temps très importants (jusqu'à un mois) (77). Une instabilité de l'OTC avait été mise en évidence. Celle-ci était intervenue plus précocement dans le plasma et de façon plus prononcée dans les urines. En effet, au bout de 28 jours, la dégradation de la molécule avait été de 10 % dans le plasma, dont 5 % après 4 jours, alors que dans les urines, elle avait été de 34 %, dont 30 % après 10 jours. Cette instabilité n'existe pas pour la conservation d'échantillons de sang total pendant un jour à température ambiante. Cependant, une dégradation survenant dans ces mêmes conditions de conservation après 24 heures n'est pas à exclure.

Par comparaison avec la formulation S.A., l'ajout de quantités croissantes de 2-P ne modifie pas l'AUC, la clairance et le V_{ss} de l'OTC administrée par voie i.v. à des brebis. En effet, les clairances des 4 traitements appartenant au plan crossover ne sont pas significativement différentes entre elles. Ceci indique soit que l'effet de la 2-P sur la PK de l'OTC a été nul, soit que celui-ci n'a pas été statistiquement significatif. Dans nos conditions expérimentales, la puissance du test statistique permettait de mettre en évidence, de façon significative, une différence entre les valeurs calculées des clairances plasmatiques des quatre traitements de 0.28 mL/min/kg (*t* test, $P = 0.05$).

Les paramètres PK obtenus pour la formulation L.A. administrée par voie i.v. à des brebis n'avaient jamais été publiés. Pour la formulation S.A., les paramètres PK observés sont inférieurs à ceux publiés précédemment. En effet, dans notre étude, les clairances plasmatiques sont comprises entre 0.7 et 1.13 mL/min/kg et les volumes de distribution (V_{area}) sont en moyenne de 0.4 L/kg. Pour les autres études, ces valeurs sont proches de 2 mL/min/kg pour la clairance et comprises entre 0.8 et 2.7 L/kg pour le volume de distribution (tableau 4). Cette différence peut en partie s'expliquer par la méthode de dosage utilisée pour notre travail. L'HPLC est une méthode moins laborieuse, plus sensible et plus sélective que la méthode microbiologique (69). L'utilisation d'un SI donne des résultats plus précis en permettant de quantifier les variations survenues lors des étapes d'extraction et de traitement

des échantillons (77). La détection par le spectre UV est couramment utilisée et celle-ci a lieu le plus souvent à 365 nm. Dans notre étude, cette détection a été effectuée à 270 nm car l'absorbance y est meilleure (98). En l'absence de lumière polarisée, notre méthode HPLC ne permet pas de séparer la molécule d'OTC de son épimère, l'épi-OTC (2). Les résultats de nos dosages correspondent donc à la somme des concentrations plasmatiques en OTC et en épi-OTC, ce qui peut expliquer la faible valeur des clairances obtenues. Des études supplémentaires seraient nécessaires pour d'une part, déterminer le pourcentage d'épimère formé *in vivo* et d'autre part, voir si la réaction d'épimérisation est temps ou formulation dépendante.

Les paramètres PK (Cl , V_{ss}) des formulations S.A. et L.A. d'OTC ne sont pas différents pour une administration par voie i.v. chez le mouton. De façon similaire, aucune différence entre la PK des deux formulations administrées à la dose de 10 mg/kg par voie i.v. n'a été observée chez la chèvre (43). Respectivement pour la formulation S.A. et pour la formulation L.A., les clairances plasmatiques ont été de 2.7 et 2.3 mL/min/kg, les volumes de distribution (V_{area}) ont été de 1.4 et 1.2 L/kg et les temps de demi-vie plasmatique ont été de 6.5 et 6 h. Cependant, les deux formulations ont été administrées à deux groupes d'animaux différents. Chez des bovins, une différence dans la pente de la phase terminale (λ_2) a été montrée, celle-ci étant plus importante avec la formulation S.A. (0.1256 contre 0.0772 h⁻¹, *t* test $P < 0.01$). Pour les autres paramètres, les clairances plasmatiques ont été de 1.9 mL/min/kg pour la formulation S.A. et 1.1 mL/min/kg pour la formulation L.A. et les volumes de distribution (V_{area}) ont été de 0.9 L/kg pour les deux formulations. Cependant, les deux formulations ont été administrées à des doses différentes (10 mg/kg pour la formulation S.A. et 20 mg/kg pour la formulation L.A.) et à deux groupes d'animaux différents (121). Chez des veaux, des différences significatives pour tous les paramètres PK excepté le temps de demi-vie plasmatique ont été mises en évidence (110). Après une administration par voie i.v. d'une dose de 10 mg/kg, les clairances plasmatiques ont été de 2.7 et 4.7 mL/min/kg, les volumes de distribution (V_{area}) ont été de 1.6 et 2.8 L/kg et les temps de demi-vie plasmatique ont été de 7.1 et 7.2 h, respectivement pour la formulation S.A. et pour la formulation L.A. Les auteurs ont expliqué cette différence de comportement PK, et notamment la valeur plus faible de l'AUC obtenue avec la formulation L.A., par la disparition et la précipitation de l'antibiotique dans un compartiment (probablement le poumon, premier organe drainé après une administration par voie i.v.). Aucune étude comparative sur la PK des deux formulations

d'OTC administrées à des ovins n'avait été réalisée auparavant. Les résultats de notre étude ne confirment pas statistiquement les tendances observées lors de l'essai préliminaire ayant motivé ce travail de thèse. Cependant, comme dans l'essai préliminaire, l'examen des courbes individuelles des concentrations obtenues avec la T.L.A.ND a mis en évidence avec la plupart des brebis un effet rebond ou plateau qui n'existait pas avec l'OTC 10 % (annexe 7). Les valeurs des AUC plasmatiques n'étant pas modifiées entre les deux formulations, l'effet observé pourrait être relié, ici aussi, à une précipitation du principe actif dans un compartiment (comme le tissu pulmonaire), suivie d'un relargage progressif de l'OTC dans la circulation systémique.

Par comparaison avec la formulation L.A., l'addition de 2-P à une formulation S.A. induit une clairance plasmatique totale de l'OTC plus importante mais ne modifie pas les volumes de distribution à l'état d'équilibre de la molécule. L'administration de T.L.A.ND a cependant été réalisée dans le seul but de confirmer les résultats de l'étude préliminaire (c'est à dire la clairance inférieure pour la formulation L.A.), en dehors du plan crossover, sans contrôle possible des conditions expérimentales (éventuel effet période). En conclusion, sur un plan PK, la T.L.A.ND administrée par voie i.v. ne peut se résumer à une formulation d'OTC S.A. additionnée de 2-P. D'autres excipients présents dans la formulation pourraient interagir.

CONCLUSION

Ce travail de thèse nous a permis d'apporter les résultats principaux suivants :

- L'OTC est stable dans le sang total conservé à température ambiante jusqu'à 24 heures avant centrifugation,
- Les paramètres PK (Cl , V_{ss}) des formulations S.A. et L.A. d'OTC administrées par voie i.v. ne sont pas différents sur le plan statistique,
- L'addition de quantités croissantes de 2-P (jusqu'à 4 g pour 1 g d'OTC) n'influence pas la PK de l'OTC (par comparaison avec la formulation S.A.),
- La présence de 2-P induit une clairance plasmatique totale de l'OTC plus importante par rapport à la formulation L.A.

Une des limites principales de notre étude est que notre méthode de dosage a mesuré les concentrations d'OTC mais aussi de son épimère. Malgré cette limite potentielle, la T.L.A.ND ne peut être résumée à une formulation d'OTC S.A. additionnée de 2-P. Les autres excipients interviennent probablement.

En conclusion, le caractère L.A. de la T.L.A.ND administrée par voie i.m. résulte principalement de la précipitation dans le muscle, comme suggéré initialement lors du développement et non, comme nous l'avons démontré, d'un effet sur les mécanismes de clairance de l'OTC lié aux excipients de la formulation L.A.

BIBLIOGRAPHIE

1. **ADIR J.** Enterohepatic circulation of tetracycline in rats. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1975 ; **64** : 1847.
2. **AGUIAR A.J., ARMSTRONG W.A., DESAI S.J.** Development of oxytetracycline long-acting injectable. *Journal of Controlled Release*, 1987 ; **6** : 375-385.
3. **AHMAD M., NAWAZ M., ZIA-UR-RAHMAN** Disposition kinetics and dosage of oxytetracycline in sheep and lamb. *Veterinarski arhiv*, 1990 ; **60** : 173-179.
4. **AITKEN I.D., ROBINSON G.W., ANDERSON I.E.** Long-acting oxytetracycline in the treatment of enzootic abortion of ewes. *The Veterinary Record*, 1982 ; **111** : 446.
5. **ALBERT A., REES C.W.** Avidity of the tetracyclines for the cations of metals. *Nature*, 1956 ; **177** : 433-434.
6. **ALFA** Material Safety Data Sheet, *2-Pyrrolidone*. (Page consultée le 09/10/00). Available at : http://www.alfa.com/cgi-bin/odc_webcat/jump.cgi?FILE=msds/16796.Html
7. **AMES T.R., LARSON V.L., STOWE C.M.** Oxytetracycline concentrations in healthy and diseased calves. *American Journal of Veterinary Research*, 1983 ; **44** : 1354-1357.
8. **ANDERSON W.I., WILSON R.C., GOETSCH D.D.** Hemoglobinuria in cattle given long-acting oxytetracycline. *Modern Veterinary Practice*, 1983 ; **64** : 997.
9. **ANIKA S.M., NOUWS J.F.M., VAN GOGH H., NIEUWENHUIJS J., VREE T.B., VAN MIERT A.S.J.P.A.M.** Chemotherapy and pharmacokinetics of some antimicrobial agents in healthy dwarf goats and those infected with *Ehrlichia phagocytophila* (tick-borne fever). *Research in Veterinary Science*, 1986 ; **41** : 386-390.
10. **ARNDT T., ROBINSON D., HOLLAND R.E., WETZLICH S., CRAIGMILL A.L.** Oxytetracycline residues in sheep following i.m. dosing with a long-acting formulation. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1997 ; **20** (Suppl. 1) : 314-315.
11. **ARONSON A.L.** Pharmacotherapeutics of the newer tetracyclines. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1980 ; **176** : 1061-1068.
12. **BARROIS F.** Terramycine Longue Action (T.L.A.). Mise à disposition des utilisateurs d'un dossier technique complet. *Bulletin de la Société Vétérinaire Pratique de France*, 1985 ; **69** : 473-484.

13. **BARZA M., BROWN R.B., SHANKS C., GAMBLE C., WEINSTEIN L.** Relation between lipophilicity and pharmacological behavior of minocycline, doxycycline, tetracycline, and oxytetracycline in dogs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1975 ; **8** : 713-720.
14. **BASF** Technical Data Sheet, *2-Pyrrolidone*. December 1996. (Page consultée le 09/10/00). Available at : <http://www.basf.com>
15. **BAXTER P., McKELLAR Q.A.** Distribution of oxytetracycline in normal and diseased ovine lung tissue. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1990 ; **13** : 428-431.
16. **BEAUMOND N.** Longue Action versus Longue Action. *Bulletin de la Société Vétérinaire Pratique de France*, 1987 ; **71** : 579-582.
17. **BLACKWOOD R.K., ENGLISH A.R.** Structure-activity relationships in the tetracycline series. In : PERLMAN D. *Structure-activity relationships among the semisynthetic antibiotics*. New York : Academic Press Inc., 1977 ; 397-426.
18. **BRANDER G.C., PUGH D.M., BYWATER R.J., JENKINS W.L.** Tetracyclines. In : BRANDER G.C., PUGH D.M., BYWATER R.J., JENKINS W.L. *Veterinary applied pharmacology and therapeutics*. 5th edition. London : Baillière Tindall, 1991 ; 467-473.
19. **BREEZE R.G., MAGONIGLE R.A.** A long-acting tetracycline for treatment of *Pasteurella pneumonia* in calves. *The Bovine Practitioner*, 1979 ; **14** : 15-17.
20. **BREZLAFF K.N., OTT R.S., KORITZ G.D., LOCK T.F., BEVILL R.F., SHAWLEY R.V., GUSTAFSSON B.K., DAVIS L.E.** Distribution of oxytetracycline in the genital tract of cows. *American Journal of Veterinary Research*, 1982 ; **43** : 12-16.
21. **BRODIE T.A., HOLMES P.H., URQUHART G.M.** Some aspects of tick-borne diseases of British sheep. *The Veterinary Record*, 1986 ; **118** : 415-418.
22. **BROWN J.R., IRELAND D.S.** Structural requirements for tetracycline activity. In : *Advances in pharmacology and chemotherapy*. New York : Academic Press, Inc., 1978 ; **15** : 161-199.
23. **BUDAVARI S.** *The Merck index*. 11th edition. Rahway : Merck and Co., Inc., 1989 ; 1274-1275.

- 24. BURROWS G.E.** Pharmacotherapeutics of macrolides, lincomycins, and spectinomycin. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1980 ; **176** : 1072-1077.
- 25. BURROWS G.E., TASLER J., BORAY J.C., EGERTON J.** Antipyrine, erythromycin and oxytetracycline disposition in experimental fasciolosis. *Research in Veterinary Science*, 1992 ; **53** : 191-197.
- 26. CHANG R., BELLIDO F.** Cyclines. In : BRYSKIER A. *Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques*. Paris : Ellipses Edition Marketing S.A., 1999 ; 657-668.
- 27. CHOPRA I., HAWKEY P.M., HINTON M.** Review. Tetracyclines, molecular and clinical aspects. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1992 ; **29** : 245-277.
- 28. CLARKE C.R., WANG Z., CUDD L., BURROWS G.E., KIRKPATRICK J.G., BROWN M.D.** Pharmacokinetics of two long-acting oxytetracycline products administered subcutaneously and intramuscularly. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1999 ; **22** : 65-67.
- 29. COLAIZZI J.L., KLINK P.R.** pH-partition behavior of tetracyclines. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1969 ; **58** : 1184-1189.
- 30. CORNWELL R.L.** Evaluation of a long-acting injectable oxytetracycline. *Modern Veterinary Practice*, 1980 ; 945-947.
- 31. CORNWELL R.L., BENTLEY O.E., MAGONIGLE R.A., SIMPSON J.E.** Long-acting oxytetracycline therapy. *Bovine Practice*, 1981 ; **2** : 16-23.
- 32. CRAIGMILL A.L., HOLLAND R.E., ROBINSON D., WETZLICH S., ARNDT T.** Serum pharmacokinetics of oxytetracycline in sheep and calves and tissue residues in sheep following a single intramuscular injection of a long-acting preparation. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2000 ; **23** : 345-352.
- 33. CROUBELS S., DE BAERE S., DE BACKER P.** The proposed MRL for doxycycline: controversy about the inclusion of the 4-epimer as marker [Abstract]. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2000 ; **23** (suppl. 1) : O4.
- 34. D.M.V.** *Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires et des produits de santé animale*. 11^e édition. Maisons-Alfort : Editions du point vétérinaire, 2001 ; 1805 p.

- 35. DAVEY L.A., FERBER M.T., KAYE B.** Comparison of the serum pharmacokinetics of a long-acting and a conventional oxytetracycline injection. *The Veterinary Record*, 1985 ; **117** : 426-429.
- 36. DE LAISTRE BANTING A., FANNEAU DE LA HORIE G.C.** Subcutaneous and intramuscular injection of oxytetracycline in calves : comparison of serum concentration and local tolerance. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1987 ; **10** : 184-186.
- 37. DEL CASTILLO J.R.E.** *Pharmacocinétique et pharmacodynamie des tétracyclines administrées via l'aliment chez le porc*. Thèse de Ph.D. Université de Montréal, 2001 ; 199 p.
- 38. DOWLING P.M., RUSSELL A.M.** Pharmacokinetics of a long-acting oxytetracycline-polyethylene glycol formulation in horses. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2000 ; **23** : 107-110.
- 39. DUGGAR B.M.** Aureomycin : a product of the continuing search for new antibiotics. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1948 ; **51** : 177-181.
- 40. EINSTEIN, JONES, KNIFTON, STARMER** Antibacterial drugs. In : *Veterinary therapeutics*. Burnt Mill : Longman Scientific and Technical, 1994 ; 342-424.
- 41. ELSHEIKH H.A., OSMAN I.A., ALI B.H.** Comparative pharmacokinetics of ampicillin trihydrate, gentamicin sulphate and oxytetracycline hydrochloride in Nubian goats and desert sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1997 ; **20** : 262-266.
- 42. ESCUDERO E., CARCELES C.M., PONFERRADA C., BAGGOT J.D.** The pharmacokinetics of a long-acting formulation of oxytetracycline in sheep and goats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1996 ; **19** : 75-77.
- 43. ESCUDERO E., CARCELES C.M., SERRANO J.M.** Pharmacokinetics of oxytetracycline in goats. Modifications induced by a long-acting formulation. *The Veterinary Record*, 1994 ; **135** : 548-552.
- 44. ESCUDERO E., PONFERRADA C., GUIMERA E., SERRANO J.M., CARCELES C.M.** Estudio farmacocinético de la oxitetraciclina en oveja y cabra. *Anales de veterinaria de Murcia*, 1993-1994 ; **9-10** : 37-47.

- 45. FABRE J., MILEK E., KALFOPOULOS P., MERIER G.** La cinétique des tétracyclines chez l'homme. I. Absorption digestive et concentrations sériques. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*, 1971 ; **101** : 593-598.
- 46. FABRE J., MILEK E., KALFOPOULOS P., MERIER G.** La cinétique des tétracyclines chez l'homme. II. Excrétion, pénétration dans les tissus et inflammatoires, comportement en cas d'insuffisance rénale et d'hémodialyse. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*, 1971 ; **101** : 625-633.
- 47. FDA** Freedom of information summary *Liquamycin*® *LA-200*®. (Page consultée le 03/10/00). Available at : <http://www.fda.gov/cvm/efoi/section1/113232s102198.htm>
- 48. FERRE P.J., CONCORDET D., LAROUTE V., CHANOIT G.P., FERRE J.-P., MANESSE M., LEFEBVRE H.P.** Comparison of ultrasonography and pharmacokinetic analysis of creatine kinase release for quantitative assessment of post-injection muscle damage in sheep. *American Journal of Veterinary Research*, accepted.
- 49. FINLAND M.** Twenty-fifth anniversary of the discovery of aureomycin : the place of the tetracyclines in antimicrobial therapy. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 1974 ; **15** : 3-8.
- 50. FINLAY A.C., HOBBY G.L., P'AN S.Y., REGNA P.P., ROUTIEN J.B., SEELEY D.B., SHULL G.M., SOBIN B.A., SOLOMONS I.A., VINSON J.W., KANE J.H.** Terramycin, a new antibiotic. *Science*, 1950 ; **111** : 85.
- 51. GILMOUR N.J.L., QUIRIE M., JONES G.E., GILMOUR J.S.** Metaphylactic use of long-acting oxytetracycline in pasteurellosis in lambs. *The Veterinary Record*, 1988 ; **123** : 443-444.
- 52. GILMOUR N.J.L., SHARP J.M., GILMOUR J.S.** Effect of oxytetracycline therapy on experimentally induced pneumonic pasteurellosis in lambs. *The Veterinary Record*, 1982 ; **111** : 97-99.
- 53. GREIG A., LINKLATER K.A.** Field studies on the efficacy of a long-acting preparation of oxytetracycline in controlling outbreaks of enzootic abortion of sheep. *The Veterinary Record*, 1985 ; **117** : 627-628.

- 54. GRIFFIN D.D., AMSTUTZ H.E., MORTER R.L., HENDRIX K.S., CRANDALL R.A.** Oxytetracycline toxicity associated with bovine respiratory disease therapy. *The Bovine Practitioner*, 1979 ; **14** : 29-35.
- 55. GRIFFIN D.D., MORTER R.L., AMSTUTZ H.E., BOON G.D.** Experimental oxytetracycline toxicity in feedlot heifers. *The Bovine Practitioner*, 1979 ; **14** : 37-41.
- 56. GROSS D.R., DODD K.T., WILLIAMS J.D., ADAMS H.R.** Adverse cardiovascular effects of oxytetracycline preparations and vehicles in intact awake calves. *American Journal of Veterinary Research*, 1981 ; **42** : 1371-1377.
- 57. GROSS D.R., KITZMAN J.V., ADAMS H.R.** Cardiovascular effects of intravenous administration of propylene glycol and of oxytetracycline in propylene glycol in calves. *American Journal of Veterinary Research*, 1979 ; **10** : 783-791.
- 58. GUYONNET J., PACAUD M., RICHARD M., KALTSATOS V.** Etude de la bioéquivalence de l'oxytétracycline de deux formulations longues actions administrées par voie i.m. chez le mouton. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 2000 ; **151** : 213-216.
- 59. GYRD-HANSEN N., RASMUSSEN F., SMITH M.** Cardiovascular effects of intravenous administration of tetracycline in cattle. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1981 ; **4** : 15-25.
- 60. HARDING R.B., JOBY R., MAIDMENT J.T., PUGH K.E.** Efficacy of a new oxytetracycline aerosol against foot rot in sheep. *The Veterinary Record*, 1981 ; **109** : 95-96.
- 61. HYDER F., PETROFF O.A.C., MATTSON R.H., ROTHMAN D.L.** Localized H NMR measurements of 2-Pyrrolidinone in human brain in vivo. *Magnetic Resonance in Medicine*, 1999 ; **41** : 889-896.
- 62. ILLES E.M.** Studies on binding of oxytetracycline to serum proteins. *Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae*, 1970 ; **20** : 13-22.
- 63. IMMELMAN A., GILIAN DREYER** Oxytetracycline concentrations in plasma and semen of rams. *Journal of the South African Veterinary Association*, 1986 ; **57** : 103-104.

- 64. IMMELMAN A., VAN RENSBURG J.J.** Oxytetracycline plasma concentrations in sheep after the administration of a polyvinylpyrrolidone formulation. *Journal of the South African Veterinary Association*, 1983 ; **54** : 241-242.
- 65. IMMELMAN A., ZIV G.** Serum and milk concentrations of oxytetracycline after the administration of a long-acting formulation to sheep. *Journal of the South African Veterinary Association*, 1982 ; **53** : 199-200.
- 66. JONAS M., COMER J.B., CUNHA B.A.** Tetracyclines. In : RISTUCCIA A.M., CUNHA B.A. *Antimicrobial therapy*. New York : Raven Press, 1984 ; 219-234.
- 67. JOUSSELLIN W., VALENTIN-SMITH A.** La Terramycine Longue Action. Son emploi dans les pneumopathies bovines, ovines et porcines et la prevention de la chlamydie ovine. *Bulletin de la Société Vétérinaire Pratique de France*, 1983 ; **67** : 459.
- 68. KAPUSNIK-UNER J.E., SANDE M.A., CHAMBERS H.F.** Antimicrobial agents (continued) Tetracyclines, chloramphenicol, erythromycin, and miscellaneous antibacterial agents. In : HARDMAN J.G., LIMBIRD L.E. *Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics*. 9th edition. New York : Mc Graw-Hill, 1996 ; 1123-1151.
- 69. KAZEMIFARD A.G., MOORE D.E.** Evaluation of amperometric detection for the liquid-chromatographic determination of tetracycline antibiotics and their common contaminants in pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmaceuticals and Biomedical Analysis*, 1997 ; **16** : 689-696.
- 70. KELLY R.G., BUYSKE D.A.** Metabolism of tetracycline in the rat and the dog. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1960 ; **130** : 144-149.
- 71. KENNEDY D.G., McCracken R.J., CAREY M.P., BLANCHFLOWER W.J., HEWITT S.A.** Iso- and epi-isochlortetracycline are the principal metabolites of chlortetracycline in the hen's egg. *Journal of Chromatography*, 1998 ; **812** : 327-337.
- 72. KIRKWOOD J.K., WIDDOWSON M.A.** Interspecies variation in the plasma half-life of oxytetracycline in relation to bodyweight. *Research in Veterinary Science*, 1990 ; **48** : 180-183.
- 73. KUMAR R., MALIK J.K.** Influence of experimentally induced theileriosis (*Theileria annulata*) on the pharmacokinetics of a long-acting formulation of oxytetracycline (OTC-

- LA) in calves. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1999 ; **22** : 320-326.
- 74. KUNIN C.M., FINLAND M.** Clinical pharmacology of the tetracycline antibiotics. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 1961 ; **2** : 51-69.
- 75. LAIRMORE M.D., ALEXANDER A.F., POWERS B.E., MILISEN W.B., McCHESNEY A.E., SPRAKER T.S.** Oxytetracycline-associated nephrotoxicosis in feedlot calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1984 ; **185** : 793-795.
- 76. LEVY S.B., McMURRY L.M., BARBOSA T.M., BURDITT V., COURVALIN P., HILLEN W., ROBERTS M.C., ROOD J.I., TAYLOR D.E.** Nomenclature for new tetracycline resistance determinants. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 1999 ; **43** : 1523-1524.
- 77. LIMPOKA M.** *Disposition of oxytetracycline in cattle, sheep and swine.* Ph.D. Thesis. University of Illinois, Urbana-Champaign, 1979 ; 136 p.
- 78. LOBO M., MARTINEZ-LARRANAGA M.R., ANADON A.** Pharmacokinetics of oxytetracycline in healthy male lambs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1997 ; **20** (Suppl. 1) : 55.
- 79. LUNDGREN D.W., FALES H.M.** Metabolism of putrescine to 5-Hydroxy-2-pyrrolidone via 2-Pyrrolidone. *The Journal of Biological Chemistry*, 1980 ; **255** : 4481-4486.
- 80. LUNDGREN D.W., HANKINS J.** Metabolism of putrescine to 2-Pyrrolidone by rat liver slices. *The Journal of Biological Chemistry*, 1978 ; **253** : 7130-7133.
- 81. LUTHMAN J., JACOBSSON S.O.** A comparison of two oxytetracycline formulations in cattle. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 1982 ; **23** : 147-149.
- 82. LUTHMAN J., JACOBSSON S.O.** The influence of feeding and oral rehydration on the bioavailability of oxytetracycline in calves. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 1987 ; **28** : 343-348.
- 83. MAGONIGLE R.A., SIMPSON J.E., FRANK F.W.** Efficacy of a new oxytetracycline formulation against clinical anaplasmosis. *American Journal of Veterinary Research*, 1978 ; **39** : 1407-1410.

- 84. MEISSONNIER E.** Discussion de l'article de BEAUMOND N. Longue Action versus Longue Action. *Bulletin de la Société Vétérinaire Pratique de France*, 1989 ; **73** : 57-69.
- 85. MEVIUS D.J., NOUWS J.F.M., BREUKINK H.J., VREE T.B., DRIESSENS F., VERKAIK R.** Comparative pharmacokinetics, bioavailability and renal clearance of five parenteral oxytetracycline-20% formulations in dairy cows. *The Veterinary Quarterly*, 1986 ; **8** : 285-294.
- 86. MOALLI M.R., DYSKO R.C., RUSH H.G., CHRISP C.E., DECOSTER J.L., SWEET K.A., GOLDSTEIN S.A.** Oxytetracycline-induced nephrotoxicosis in dogs after intravenous administration for experimental bone labeling. *Laboratory Animal Science*, 1996 ; **46** : 497-502.
- 87. MORENO L., SERRANO J.M., GUIMERA E., PONFERRADA C.J., CARCELES C.M.** The effects of calcium on intravenous pharmacokinetics of oxytetracycline in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1997 ; **20** (Suppl. 1) : 59.
- 88. MORENO L., SERRANO J.M., GUIMERA M.E.** Pharmacokinetics of oxytetracycline after intramuscular administration with lidocaine in sheep, comparison with a conventional formulation. *Research in Veterinary Science*, 1998 ; **65** : 209-213.
- 89. NARAYANA K., RAMACHANDRARAO L., KRISHNAMURTHY B.L., HONNAPPA T.G.** Anaphylactic shock and/or death following the intravenous administration of oxytetracycline hydrochloride (Terramycin) in cattle. *Indian Veterinary Journal*, 1985 ; **62** : 270.
- 90. NEUSCHL J., NAGY J., SOKOL J., POPELKA P., CONKOVA E., SUTIAK V.** A comparison of the serum level kinetics and biological half-life of oxytetracycline after long action preparations (Tetravet 20 % L.A. inj. And Engemycin 10 % L.A. inj.) in sheep and their tolerance. *Veterinarni Medicina*, 2000 ; **45** : 83-87.
- 91. NEUVONEN P.J.** Interactions with the absorption of tetracyclines. *Drugs*, 1976 ; **11** : 45-54.
- 92. NOUWS J.F.M.** Comparative plasma oxytetracycline levels of a "long-acting" and a normal oxytetracycline formulation in ruminant calves. In : *Pharmacologie et toxicologie vétérinaires. 2^e Congrès européen, Toulouse, France, 13-17 Septembre 1982, Les Colloques de l'I.N.R.A.* ; **8** : 195-198.

- 93. NOUWS J.F.M., BREUKINK H.J., BINKHORST G.J., LOHUIS J., VAN LITH P., MEVIUS D.J., VREE T.B.** Comparative pharmacokinetics and bioavailability of eight parenteral oxytetracycline-10% formulations in dairy cows. *The Veterinary Quarterly*, 1985 ; **7** : 306-314.
- 94. NOUWS J.F.M., BREUKINK H.J., BINKHORST G.J., LOHUIS J., VAN LITH P., MEVIUS D.J., VREE T.B.** Pharmacokinetics and renal clearance of oxytetracycline after intravenous and intramuscular administration to dairy cows. *The Veterinary Quarterly*, 1985 ; **7** : 296-305.
- 95. NOUWS J.F.M., SMULDERS A., RAPPALINI M.** A comparative study on irritation and residue aspects of five oxytetracycline formulations administered intramuscularly to calves, pigs and sheep. *The Veterinary Quarterly*, 1990 ; **12** : 129-138.
- 96. NOUWS J.F.M., VAN GINNEKEN C.A.M., ZIV G.** Age-dependent pharmacokinetics of oxytetracycline in ruminants. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1983 ; **6** : 59-66.
- 97. NOUWS J.F.M., VREE T.B.** Effect of injection site on the bioavailability of an oxytetracycline formulation in ruminant calves. *The Veterinary Quarterly*, 1983 ; **5** : 165-170.
- 98. PAPADOYANNIS I.N., SAMANIDOU V.F., KOVATSI L.A.** A rapid performance liquid chromatographic (HPLC) assay for the determination of oxytetracycline in commercial pharmaceuticals. *Journal of Pharmaceuticals and Biomedical Analysis*, 2000 ; **23** : 275-280.
- 99. PETROFF O.A.C., HYDER F., MATTSON R.H., ROTHMAN D.L.** Topiramate increases brain GABA, homocarnosine, and pyrrolidinone in patients with epilepsy. *Neurology*, 1999 ; **52** : 473-478.
- 100. PETROFF O.A.C., HYDER F., ROTHMAN D.L., MATTSON R.H.** Effects of gabapentin on brain GABA, homocarnosine and pyrrolidinone in epilepsy patients. *Epilepsia*, 2000 ; **41** : 675-680.
- 101. PHILIPON A., PAUL G., GIROUD J.P.** Tétracyclines. In : GIROUD J.P., MATHE G., MEGNIEL G. *Pharmacologie clinique. Bases de la thérapeutique*. Paris : Expansion Scientifique, 1979 ; 1432-1445.

- 102.PILLOUD M.** Pharmacokinetics, plasma protein binding and dosage of oxytetracycline in cattle and horses. *Research in Veterinary Science*, 1973 ; **15** : 224-230.
- 103.PONFERRADA C., CABANAS L.F., SERRANO J.M., SANTIAGO D.** Pharmacokinetics of oxytetracycline in sheep. Intravenous disposition kinetics. *Proceedings of the 4th Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology, Budapest, Hungary, August 28-September 2 1988* ; [Abstract] **1** : 38.
- 104.PONFERRADA C., MIGUELEZ H.J., CARCELES C.M., SERRANO J.M., SANTIAGO D.** Pharmacokinetics of a long-acting oxytetracycline formulation for intramuscular administration to sheep. *Proceedings of the 4th Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology, Budapest, Hungary, August 28 - September 2 1988* ; [Abstract] **1** : 39.
- 105.PRESCOTT J.F., DESMOND BAGGOT J.** *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*. Boston : Blackwell Scientific Publications, 1988 ; 367 p.
- 106.RADWAN M.A., ZAGHLOUL I.Y., RADWAN A.I., ALY Z.H.** Multiple-dose pharmacokinetics of long-acting oxytetracycline in *Brucella melitensis*-infected sheep. *International Journal of Pharmaceutics*, 1998 ; **160** : 91-97.
- 107.RIOND J.-L., RIVIERE J.E.** Effects of tetracyclines on the kidney in cattle and dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1989 ; **195** : 995-997.
- 108.RIVIERE J.E., SPOO J.W.** Tetracyclines antibiotics. In : RICHARD ADAMS H. *Veterinary pharmacology and therapeutics*. 7th edition. Ames : Iowa State University Press, 1995 ; 784-796.
- 109.SANDERS P., GUILLOT P., MOUROT D.** Caractéristiques pharmacocinétiques d'une formulation d'oxytétracycline chez le bovin adulte. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 1989 ; **165** : 55-60.
- 110.SCHIFFERLI D., GALEAZZI R.L., NICOLET J., WANNER M.** Pharmacokinetics of oxytetracycline and therapeutic implications in veal calves. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1982 ; **5** : 247-257.

- 111.SERRANO J.M., MORENO L., GUIMERA E., CARCELES C.M., PONFERRADA C.J.** Calcium effect on intramuscular absorption of oxytetracycline in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1997 ; **20** (Suppl. 1) : 58-59.
- 112.SIEGEL D.** Tetracyclines : New look at old antibiotic I. Clinical pharmacology, mechanism of action, and untoward effects. *New York State Journal of Medicine*, 1978 ; **78** : 950-956.
- 113.SPEER B.S., SHOEMAKER N.B., SALYERS A.A.** Bacterial resistance to tetracycline : mechanisms, transfer, and clinical significance. *Clinical Microbiology Reviews*, 1992 ; **5** : 387-399.
- 114.STEPHENS C.R., CONOVER L.H., HOCHSTEIN F.A., REGNA P.P., PILGRIM F.J., BRUNINGS K.J., WOODWARD R.B.** Structure of aureomycin and terramycin. *The Journal of the American Chemical Society*, 1952 ; **74** : 4976-4977.
- 115.STEPHENS C.R., CONOVER L.H., PASTERNAK R., HOCHSTEIN F.A., MORELAND W.T., REGNA P.P., PILGRIM F.J., BRUNINGS K.J., WOODWARD R.B.** The structure of aureomycin. *The Journal of the American Chemical Society*, 1954 ; **76** : 3568-3575.
- 116.STEVENSON S.** Oxytetracycline nephrotoxicosis in two dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1980 ; **176** : 530-531.
- 117.STEWART C.G., IMMELMAN A., GRIMBEEK P., DRICKY GRIB** The use of a short and a long-acting oxytetracycline for the treatment of *Anaplasma marginale* in splenectomized calves. *Journal of the South African Veterinary Association*, 1979 ; **50** : 83-85.
- 118.SUM P.-E., SUM F.-W., PROJAN S.J.** Recent developments in tetracycline antibiotics. *Current Pharmaceutical Design*, 1998 ; **4** : 119-132.
- 119.TERHUNE T.N., UPSON D.W.** Oxytetracycline pharmacokinetics, tissue depletion, and toxicity after administration of a long-acting preparation at double the label dosage. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1989 ; **194** : 911-917.
- 120.TEUSCHER E., LAMOTHE P., TELLIER P., LAVALLEE J.-C.** Une néphrose toxique chez des veaux traités par un médicament contenant des produits de dégradation des tétracyclines. *Canadian Veterinary Journal*, 1982 ; **23** : 327-331.

- 121.TOUTAIN P.L., RAYNAUD J.P.** Pharmacokinetics of oxytetracycline in young cattle. Comparison of conventional vs long-acting formulations. *American Journal of Veterinary Research*, 1983 ; **44** : 1203-1209.
- 122.UCELLI V., DELEFORGE J., BOISRAME B.** Pharmacocinétique et tolérance locale comparées de deux formulations d'oxytétracycline chez la vache. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 1988 ; **164** : 939-943.
- 123.VAALA W.E., EHNEN S.J., DIVERS T.J.** Acute renal failure associated with administration of excessive amounts of tetracycline in a cow. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1987 ; **191** : 1601-1603.
- 124.VETOQUINOL** Oxytétracycline 10 % VETOQUINOLND, Solution injectable. Notice d'emploi.
- 125.VOGELMAN B., CRAIG W.A.** Kinetics of antimicrobial activity. *Journal of Pediatrics*, 1980 ; **108** : 835-840.
- 126.XIA W., GYRD-HANSEN N., NIELSEN P.** Comparison of pharmacokinetic parameters for two oxytetracycline preparations in pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1983 ; **6** : 113-120.
- 127.XIA W., NIELSEN P., GYRD-HANSEN N.** Oxytetracyclines in cattle. A comparison between a conventional and a long-acting preparation. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 1983 ; **24** : 120-128.
- 128.ZIV G., SULMAN F.G.** Analysis of pharmacokinetic properties of nine tetracycline analogues in dairy cows and ewes. *American Journal of Veterinary Research*, 1974 ; **35** : 1197-1201.
- 129.ZIV G., SULMAN F.G.** Binding of antibiotics to bovine and ovine serum. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1972 ; **2** : 206-213.

ANNEXES

ANNEXE 1

Tableau 10 : Animaux à l'arrivée : relevé de leur identification, race, poids, âge et des observations complémentaires

IDENTIFICATION N° de travail		RACE	POIDS (P0) en kg le 11/10/00	AGE	OBSERVATIONS
1	2902	LACAUNE	56	ADULTE	
2	2004	LACAUNE	45	ADULTE	
3	4008	LACAUNE	48	ADULTE	
4	3045	LACAUNE	49	ADULTE	
5	4090	LACAUNE	39	ADULTE	
6	3053	LACAUNE	45	ADULTE	
7	3049	LACAUNE	50	ADULTE	
8	3085	LACAUNE	47	ADULTE	PRESENCE DE LAIT
9	3035	LACAUNE	49	ADULTE	
10	3004	LACAUNE	46	ADULTE	
11	4027	LACAUNE	41	ADULTE	ABSENCE DE BOUCLE
12	4020	LACAUNE	40	ADULTE	
Moyenne			46.3		
Ecart-type			4.77		

ANNEXE 2

Tableau 11 : Procédé de randomisation (par "alea" sous Microsoft EXCEL ®)

		POIDS (P0) CLASSE PAR ORDRE CROISSANT	FACTEUR ALEATOIRE DE RANDOMISATION	POIDS (P0) RANDOMISE	NUMERO DE TRAVAIL DES BREBIS CORRESPONDANT
Séquence 1	1	39	0.660059509	G	4090
	2	40	0.647433941	D	4020
	3	41	0.984761439	J	4027
	4	45	0.553418744	A	3053
Séquence 2	1	45	0.144768703	B	2004
	2	46	0.776899852	H	3004
	3	47	0.666690314	E	3085
	4	48	0.938036388	K	4008
Séquence 3	1	49	0.787162887	L	3045
	2	49	0.655768284	I	3035
	3	50	0.511646562	F	3049
	4	56	0.092208109	C	2902

ANNEXE 3

Tableau 12 : Evolution du poids des brebis au cours des expérimentations

* Ces valeurs correspondent aux poids de la brebis M (Numéro de travail 240) utilisée en remplacement de la brebis I pour les expérimentations

BREBIS	NUMERO DE TRAVAIL	POIDS							
		(P0) en kg le 11/10/00	(P1) en kg le 26/10/00	(P2) en kg le 06/11/00	(P3) en kg le 13/11/00	(P4) en kg le 20/11/00	(P5) en kg le 23/11/00	(P6) en kg le 04/12/00	
GROUPE 1	A	3053	45	41	42	41	42	42	40
	B	2004	45	46	44	46	46	46	43
	C	2902	56	52	50	53	54	52	48
Moyennes Groupe 1			48.7	46.3	45.3	46.7	47.3	46.7	43.7
Ecart-type Groupe 1			6.35	5.51	4.16	6.03	6.11	5.03	4.04
GROUPE 2	D	4020	40	42	41	42	41	41	37
	E	3085	47	43	41	44	43	43	40
	F	3049	50	48	48	49	50	51	47
Moyennes Groupe 2			45.7	44.3	43.3	45	44.7	45	41.3
Ecart-type Groupe 2			5.13	3.22	4.04	3.61	4.73	5.29	5.13
GROUPE 3	G	4090	39	40	39	40	40	41	38
	H	3004	46	43	46	47	47	47	42
	I/M	3035	49	53 *	52 *	53 *	52 *	52 *	53 *
Moyennes Groupe 3			44.7	45.3	45.7	46.7	46.3	46.7	44.3
Ecart-type Groupe 3			5.13	6.81	6.51	6.51	6.03	5.51	7.77
GROUPE 4	J	4027	41	36	38	39	38	38	34
	K	4008	48	45	47	47	44	48	45
	L	3045	49	48	48	51	48	50	48
Moyennes Groupe 4			46.0	43.0	44.3	45.7	43.3	45.3	42.3
Ecart-type Groupe 4			4.36	6.25	5.51	6.11	5.03	6.43	7.37
Moyennes Générales			46.3	44.8	44.7	46.0	45.4	45.9	42.9
Ecart-type des Moyennes des groupes			1.71	1.42	1.05	0.82	1.77	0.88	1.34

ANNEXE 4

Tableau 13 : Composition des traitements administrés aux brebis à chaque période

* La brebis M (Numéro de travail 240) a été utilisée en remplacement de la brebis I pour les expérimentations

Brebis	P1 (Kg)	TRAITEMENT (mL)			P2 (Kg)	TRAITEMENT (mL)			P3 (Kg)	TRAITEMENT (mL)			P4 (Kg)	TRAITEMENT (mL)		
		OTC	2-P	NaCl												
A	41	8.2	0.0	4.9	42	8.4	3.0	2.0	41	8.2	0.7	4.2	42	8.4	1.5	3.5
B	46	9.2	0.0	5.5	44	8.8	3.2	2.1	46	9.2	0.8	4.7	46	9.2	1.7	3.9
C	52	10.4	0.0	6.2	50	10.0	3.6	2.4	53	10.6	1.0	5.4	54	10.8	1.9	4.5
D	42	8.4	3.0	2.0	41	8.2	1.5	3.4	42	8.4	0.0	5.0	41	8.2	0.7	4.2
E	43	8.6	3.1	2.1	41	8.2	1.5	3.4	44	8.8	0.0	5.3	43	8.6	0.8	4.4
F	48	9.6	3.5	2.3	48	9.6	1.7	4.0	49	9.8	0.0	5.9	50	10.0	0.9	5.1
G	40	8.0	1.4	3.4	39	7.8	0.7	4.0	40	8.0	2.9	1.9	40	8.0	0.0	4.8
H	43	8.6	1.5	3.6	46	9.2	0.8	4.7	47	9.4	3.4	2.3	47	9.4	0.0	5.6
M*	53	10.6	1.9	4.5	52	10.4	0.9	5.3	53	10.6	3.8	2.5	52	10.4	0.0	6.2
J	36	7.2	0.6	3.7	38	7.6	0.0	4.6	39	7.8	1.4	3.3	38	7.6	2.7	1.8
K	45	9.0	0.8	4.6	47	9.4	0.0	5.6	47	9.4	1.7	3.9	44	8.8	3.2	2.1
L	48	9.6	0.9	4.9	48	9.6	0.0	5.8	51	10.2	1.8	4.3	48	9.6	3.5	2.3

OTC : Oxytétracycline 10 % VETOQUINOLND

2-P : 2-pyrrolidone

NaCl : Chlorure de sodium isotonique à 0.9 %

Tableau 14 : Quantités de T.L.A.ND (dose de 20 mg/Kg) administrées aux brebis

* La brebis M (Numéro de travail 240) a été utilisée en remplacement de la brebis I pour les expérimentations

Brebis	Poids P6 (Kg)	T.L.AND (mL)
A	40	4
B	43	4.3
C	48	4.8
D	37	3.7
E	40	4
F	47	4.7
G	38	3.8
H	42	4.2
M*	53	5.3
J	34	3.4
K	45	4.5
L	48	4.8

ANNEXE 5

Tableau 15 : Planning des administrations des différents traitements selon le groupe d'animaux et la période (crossover)

		PERIODE (SEMAINE)			
GROUPE	BREBIS	1	2	3	4
1	A, B, C	T1	T4	T2	T3
2	D, E, F	T4	T3	T1	T2
3	G, H, I	T3	T2	T4	T1
4	J, K, L	T2	T1	T3	T4

Tn : Traitement n

ANNEXE 6

Tableau 16 : Variation des concentrations calculées pour les fractions n par rapport aux concentrations obtenues avec la fraction 1 en fonction de la brebis et des temps de prélèvement

FRACTIONS	BREBIS	TEMPS (min)	VARIATION Δ (%)
2	A	2	-5.15
3	A	2	0.56
4	A	2	-3.13
5	A	2	-11.17
6	A	2	-7.58
2	A	240	-11.42
3	A	240	-19.14
4	A	240	-3.84
5	A	240	15.73
6	A	240	8.91
2	A	1440	18.60
3	A	1440	9.88
4	A	1440	22.09
5	A	1440	18.02
6	A	1440	25.00
2	B	2	9.41
3	B	2	11.50
4	B	2	1.16
5	B	2	4.67
6	B	2	3.53
2	B	240	5.30
3	B	240	2.91
4	B	240	-1.56
5	B	240	4.68
6	B	240	12.13
2	B	1440	-7.81
3	B	1440	5.02
4	B	1440	-1.49
5	B	1440	5.39
6	B	1440	5.76
Moyenne des variations positives			9.51
Moyenne des variations négatives (en valeur absolue)			7.23
Variation moyenne			8.37

$$\Delta = [(fraction\ n - fraction\ 1) / fraction\ 1] \times 100$$

ANNEXE 7

Tableau 17 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g/mL}$) pour la brebis A en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées

Numéro de prélèvement	Temps (min)	Période 1	Période 2	Période 3	Période 4	T.L.A. ND
A-2	1	395.13	432.55	549.12	373.26	498.56
A-3	2	317.59	250.27	485.42	381.14	373.4
A-4	4	251.34	214.1	282.8	168.26	231.55
A-5	8	160.77	162.35	205.4	120.89	156.76
A-6	15	99.61	108.8	126.04	83.93	107.6
A-7	30	68.89	54.55	83.32	50.73	51.82
A-8	60	49.07	44.25	61.26	26.68	46.46
A-9	120	29.61	37.58	52.6	19.2	36.84
A-10	240	24.2	19.31	38.89	15.23	31.89
A-11	360	20.69	15.35	29.82	12.2	26.92
A-12	480	15.69	10.89	27.7	8.3	23.37
A-13	600	12.57	6.93	25.4	5.92	20.66
A-14	720	9.74	4.84	24.89	4.63	15.83
A-15	1440	2.77	1.19	4.34	1.5	6.84
A-16	2040	1.06	0.45	1.49	0.42	2.34
A-17	2880	0.44	nd	0.79	nd	0.69
A-18	4320	nd	nd	nd	nd	nd
Poids (kg)		41	42	41	42	40
Double pesée						
P1 (mg)		15725	16003.4	15725.7	15889.5	9652.7
P2 (mg)		6824.6	6859.5	6837.6	6774	5048.2
Densité (mg/mL)		1043	1043	1043	1043	1125.5
Dose (mg)		853	877	852	874	818
Dose ($\mu\text{g/kg}$)		20813.3	20873.6	20784.6	20808.8	20455.4

nd : non déterminé (< LOQ)

Pour la double pesée, P1 représente le poids de la seringue contenant le traitement avant administration et P2 représente le poids de la seringue après administration

Tableau 18 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g/mL}$) pour la brebis B en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées

Numéro de prélèvement	Temps (min)	Période 1	Période 2	Période 3	Période 4	T.L.A. ND
B-2	1	378.11	452.15	732.73	408.24	488.35
B-3	2	318.08	348.04	486.78	307.55	379.73
B-4	4	238.86	243.47	318.25	195.35	269.73
B-5	8	170.3	186.54	221.89	139.53	197.29
B-6	15	110.41	128.24	135.68	91.5	117.44
B-7	30	68.17	63.54	75.07	52.69	72.47
B-8	60	40.55	40.71	67.9	32.88	49.11
B-9	120	32.01	26.64	41.72	21.97	40.8
B-10	240	23.41	18.06	20.96	12.78	28.01
B-11	360	20.37	13.35	17.34	10.83	15.7
B-12	480	14.09	10.12	8.87	7.8	14.57
B-13	600	13.89	6.78	7.99	5.78	12.82
B-14	720	8.72	5.66	5.88	3.78	7.65
B-15	1440	2	1.42	1.69	0.75	3.72
B-16	2040	1.31	0.44	0.59	0.55	1.16
B-17	2880	0.78	nd	nd	nd	0.63
B-18	4320	nd	nd	nd	nd	nd
Poids (kg)		46	44	46	46	43
Double pesée						
P1 (mg)		16850.1	16370.5	16825.1	16869	10042.8
P2 (mg)		6792.5	6851.5	6825.2	6896.9	5036.3
Densité (mg/mL)		1043	1043	1043	1043	1125.5
Dose (mg)		964	913	959	956	890
Dose ($\mu\text{g/kg}$)		20962.9	20742.2	20842.7	20784.7	20689.5

nd : non déterminé (< LOQ)

Pour la double pesée, P1 représente le poids de la seringue contenant le traitement avant administration et P2 représente le poids de la seringue après administration

Tableau 19 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g/mL}$) pour la brebis C en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées

Numéro de prélèvement	Temps (min)	Période 1	Période 2	Période 3	Période 4	T.L.A. ND
C-2	1	392.64	402.76	515.8	417.25	465.99
C-3	2	294.85	357.41	318.91	329.89	299.41
C-4	4	215.44	272.11		230.12	230.98
C-5	8	173.45	171.61	149.1	143.77	169.57
C-6	15	98.78	92.82	110.05	123.66	108.77
C-7	30	70.01	55.6	77.46	63.13	68.96
C-8	60	43.02	35.61	55.94	32.7	50.07
C-9	120	35.73	18.75	28.79	23.86	30.74
C-10	240	31.89	10.41	12.27	18.77	30.5
C-11	360	23.71	8.73	5.98	15.4	30.32
C-12	480	18.05	4.63	4.52	12.96	21.59
C-13	600	15.65	3.84	3.27	9.48	19.88
C-14	720	11.52	2.32	2.76	7.82	19.19
C-15	1440	3.66	0.45	0.62	2.37	13.96
C-16	2040	1.32	nd	nd	0.57	11.67
C-17	2880	0.43	nd	nd	nd	3.55
C-18	4320	nd	nd	nd	nd	nd
Poids (kg)		52	50	53	54	48
Double pesée						
P1 (mg)		18399.3	17866.8	18225.5	18413.3	10624
P2 (mg)		6775.1	6843.6	6868.5	6800.5	5058.4
Densité (mg/mL)		1043	1043	1043	1043	1125.5
Dose (mg)		1114	1057	1089	1113	989
Dose ($\mu\text{g/kg}$)		21432.6	21137.5	20544.9	20618.6	20604.2

nd : non déterminé (< LOQ)

Pour la double pesée, P1 représente le poids de la seringue contenant le traitement avant administration et P2 représente le poids de la seringue après administration

Tableau 20 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g/mL}$) pour la brebis D en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées

Numéro de prélèvement	Temps (min)	Période 1	Période 2	Période 3	Période 4	T.L.A. ND
D-2	1	403.1	371.95	521.88	413.23	396.33
D-3	2	255.01	288.1	370.37	371.01	302.84
D-4	4	192.73	214.87	218.16	203.25	196.77
D-5	8	143.61	163.8	189.07	169.38	144.94
D-6	15	93.85	98.69	110.58	97.29	93.26
D-7	30	61.7	77.66	97.13	53.18	61.66
D-8	60	46.84	72.6	87.65	44.89	38.95
D-9	120	32.95	48.7	74.89	31.59	28.39
D-10	240	22.38	24.89	39.36	18.13	19.04
D-11	360	15.57	23.73	29.28	16.13	17.02
D-12	480	10.61	13.33	13.51	9.97	10.53
D-13	600	7.36	11.5	10.71	7.73	7.3
D-14	720	5.11	6.6	8.87	5.3	12.2
D-15	1440	1.26	1.68	2.62	1.34	3.81
D-16	2040	0.46	0.49	0.97	0.54	1.1
D-17	2880	nd	nd	nd	0.33	1.81
D-18	4320	nd	nd	nd	nd	nd
Poids (kg)		42	41	42	41	37
Double pesée						
P1 (mg)		15964.5	15772.9	16422.3	15856.4	9281.3
P2 (mg)		6807.6	6846.2	7484	6842.6	5047.9
Densité (mg/mL)		1043	1043	1043	1043	1125.5
Dose (mg)		878	856	857	864	752
Dose ($\mu\text{g/kg}$)		20903.3	20874.8	20404.3	21078.5	20331.6

nd : non déterminé (< LOQ)

Pour la double pesée, P1 représente le poids de la seringue contenant le traitement avant administration et P2 représente le poids de la seringue après administration

Tableau 21 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g/mL}$) pour la brebis E en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées

Numéro de prélèvement	Temps (min)	Période 1	Période 2	Période 3	Période 4	T.L.A. ND
E-2	1	392.76	311.27	378.51	418.76	300.35
E-3	2	252.34	226.16	294.55	345.35	297.38
E-4	4	179.05	156.58	218.45	221.68	177.94
E-5	8	130.63	126.58	126.42	148.15	131.44
E-6	15	71.58	82.03	86.61	91.52	81.03
E-7	30	41.04	38.44	58.2	53.83	61.18
E-8	60	30.14	28.96	42.5	35.35	41.25
E-9	120	20.2	26.93	21.65	24.76	28.13
E-10	240	11.8	14.04	14.82	14.59	18.39
E-11	360	7.7	8.53	8.4	8.84	14.28
E-12	480	5.43	6.57	4.45	6.79	9.92
E-13	600	2.99	3.7	3.29	4.67	6.83
E-14	720	2.38	2.47	3.52	2.6	5.2
E-15	1440	0.83	0.87	0.93	0.61	1.17
E-16	2040	0.69	nd	0.71	nd	0.34
E-17	2880	0.45	nd	nd	nd	nd
E-18	4320	nd	nd	nd	nd	nd
Poids (kg)		43	41	44	43	40
Double pesée						
P1 (mg)		16269.7	15764.3	16257.5	16196.5	9695.3
P2 (mg)		6787.9	6853	6832.6	6838.4	5048.8
Densité (mg/mL)		1043	1043	1043	1043	1125.5
Dose (mg)		909	854	904	897	826
Dose ($\mu\text{g/kg}$)		21141.6	20838.8	20537.1	20865.8	20641.9

nd : non déterminé (< LOQ)

Pour la double pesée, P1 représente le poids de la seringue contenant le traitement avant administration et P2 représente le poids de la seringue après administration

Tableau 22 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g/mL}$) pour la brebis F en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées

Numéro de prélèvement	Temps (min)	Période 1	Période 2	Période 3	Période 4	T.L.A. ND
F-2	1	395.16	473.56	460.79	583.97	453.2
F-3	2	293.35	349.46	325.58	425.43	380.34
F-4	4	279.9	295.23	215.07	265.13	271.72
F-5	8	113.53	184.38	162.87	169.55	166.11
F-6	15	92.2	102.94	109.81	112.91	117.13
F-7	30	74.44	69.74	63.48	60.1	66.26
F-8	60	36.57	52.99	45.78	36.2	44.73
F-9	120	23.89	29.43	40.73	29.67	32.35
F-10	240	11.82	23.18	33.76	18.72	33.15
F-11	360	7.12	14.87	23.87	17	32.31
F-12	480	4.62	11.69	31.82	11.31	34.01
F-13	600	3.15	8.89	25.05	10.52	31.42
F-14	720	1.85	6.33	25.78	10.95	27.55
F-15	1440	0.56	1.06	7.53	3.37	21.17
F-16	2040	0.35	nd	3.74	1	10.08
F-17	2880	0.34	nd	2.45	0.81	2.57
F-18	4320	nd	nd	2.04	nd	0.32
Poids (kg)		48	48	49	50	47
Double pesée						
P1 (mg)		17244.6	17541.5	17436.1	17800.4	10511.3
P2 (mg)		6820.4	6841.5	6901.9	6837.6	5093.1
Densité (mg/mL)		1043	1043	1043	1043	1125.5
Dose (mg)		999	1026	1010	1051	963
Dose ($\mu\text{g/kg}$)		20821.7	21372.6	20612.0	21021.7	20485.3

nd : non déterminé (< LOQ)

Pour la double pesée, P1 représente le poids de la seringue contenant le traitement avant administration et P2 représente le poids de la seringue après administration

Tableau 23 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g/mL}$) pour la brebis G en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées

Numéro de prélèvement	Temps (min)	Période 1	Période 2	Période 3	Période 4	T.L.A. ND
G-2	1	598.1		466.38	437.44	346.04
G-3	2	307.44	287.92	354.8	309.96	284.62
G-4	4	263.06	236.9	220.02	235.88	204.81
G-5	8	180.85	157.74	170.01	164.33	147.37
G-6	15	133.75	117.64	104.2	130.49	96.97
G-7	30	83.17	71.27	75.76	72.53	59.06
G-8	60	75.86	41.89	58.28	62.11	49.64
G-9	120	46.63	35.18	37.95	37.77	37.24
G-10	240	22.2	22.86	18.47	26.94	26.66
G-11	360	18.38	18.25	14.35	23.54	27.68
G-12	480	16.8	13.68	11.72	17.26	23.83
G-13	600	12.77	8.71	10.97	12.71	20.49
G-14	720	9.61	6.5	5.85	10.15	17.63
G-15	1440	2.28	1.84	2.05	3.36	6.58
G-16	2040	0.65	nd	1.54	1.05	2.11
G-17	2880	nd	nd	1.22	0.56	0.39
G-18	4320	nd	nd	1.41	nd	nd
Poids (kg)		40	39	40	40	38
Double pesée						
P1 (mg)		15591.3	15503.3	15766.3	15690.5	9460.6
P2 (mg)		6783.5	6855.5	6836.6	6895	5077.4
Densité (mg/mL)		1043	1043	1043	1043	1125.5
Dose (mg)		844	829	856	843	779
Dose ($\mu\text{g/kg}$)		21111.7	21259.7	21403.9	21082.2	20497.1

nd : non déterminé (< LOQ)

Pour la double pesée, P1 représente le poids de la seringue contenant le traitement avant administration et P2 représente le poids de la seringue après administration

Tableau 24 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g/mL}$) pour la brebis H en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées

Numéro de prélèvement	Temps (min)	Période 1	Période 2	Période 3	Période 4	T.L.A. ND
H-2	1	410.29	262.44	476.23	341.81	498.93
H-3	2	259.18	212.22	340	283.33	299.13
H-4	4	194.75	204.63	229.43	216.11	207.23
H-5	8	126.15	145.33	168.94	149.64	131.05
H-6	15	88.97	68.06	100.82	96.42	84.25
H-7	30	54.77	55.46	63.57	59.37	50.29
H-8	60	50.19	43.71	40.89	49.02	36.29
H-9	120	30.96	21.39	34.35	27.36	27.68
H-10	240	20.51	9.3	19.6	20.76	21
H-11	360	14.19	8.85	15.47	16.06	19.2
H-12	480	12.67	8.77	13.06	13.44	15.75
H-13	600	7.28	5.41	8.85	8.49	15.66
H-14	720	5.23	5.21	6.45	6.38	11.87
H-15	1440	1.04	1.27	1.52	2.03	4.77
H-16	2040	0.53	nd	0.89	0.83	1.43
H-17	2880	0.44	nd	0.69	nd	0.44
H-18	4320	nd	nd	nd	nd	nd
Poids (kg)		43	46	47	47	42
Double pesée						
P1 (mg)		16237.5	16845.3	17231	17119.4	9924.4
P2 (mg)		6818.5	6882.6	6928.3	6824.7	5059.8
Densité (mg/mL)		1043	1043	1043	1043	1125.5
Dose (mg)		903	955	988	987	864
Dose ($\mu\text{g/kg}$)		21001.6	20765.1	21016.9	21000.6	20581.8

nd : non déterminé (< LOQ)

Pour la double pesée, P1 représente le poids de la seringue contenant le traitement avant administration et P2 représente le poids de la seringue après administration

Tableau 25 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g/mL}$) pour la brebis M en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées

Numéro de prélèvement	Temps (min)	Période 1	Période 2	Période 3	Période 4	T.L.A. ND
M-2	1	236.67	439.55	811.44	498.64	405.02
M-3	2	143.41	289.2	665.24	397.91	362.1
M-4	4	107.19	215.02	353.51	254.71	282.4
M-5	8	62.72	172.07	244.27	175.38	161.38
M-6	15	39.95	109.66	127.48	118.39	104.99
M-7	30	25.71	78.14	71.07	61.62	60.84
M-8	60	14.61	53.62	52.28	32.03	35.05
M-9	120	9.51	27.68	28.82	24.05	31.09
M-10	240	5.64	14.52	15.9	11.78	23.79
M-11	360	4.65	7.93	12.87	9.45	20.91
M-12	480	3.2	6.11	9.66	5.88	17.21
M-13	600	2.29	3.79	7.54	3.35	12.81
M-14	720	2.08	3.29	5.51	2.55	15.71
M-15	1440	0.49	0.53	1.47	0.53	3.56
M-16	2040	nd	nd	0.64	nd	1.02
M-17	2880	nd	nd	nd	nd	nd
M-18	4320	nd	nd	nd	nd	nd
Poids (kg)		53	52	53	52	53
Double pesée						
P1 (mg)		18861.3	18218.4	18392.8	8348.6	11039.7
P2 (mg)		7328.2	6804.5	6856	6821	5040.3
Densité (mg/mL)		1043	1043	1043	1043	1125.5
Dose (mg)		1106	1094	1106	1105	1066
Dose ($\mu\text{g/kg}$)		20863.4	21044.9	20870.1	21254.5	20114.8

nd : non déterminé (< LOQ)

Pour la double pesée, P1 représente le poids de la seringue contenant le traitement avant administration et P2 représente le poids de la seringue après administration

Tableau 26 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g/mL}$) pour la brebis J en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées

Numéro de prélèvement	Temps (min)	Période 1	Période 2	Période 3	Période 4	T.L.A. ND
J-2	1		411	285.16	486.75	432.3
J-3	2		302.47	262.29	385.16	292.02
J-4	4		241.33	180.19	281.34	182.23
J-5	8	160.62	155.19	131.17	188.27	146.82
J-6	15	112.35	112.23	85.32	140.25	94.6
J-7	30	76.87	71.66	61.79	75.41	57.09
J-8	60	68.08	56.64	46.18	71.84	40.59
J-9	120	57.57	39.36	29.68	37.01	31.94
J-10	240	37.73	26.15	31.78	23.47	22.86
J-11	360	30.66	25.14	21.49	17.42	17.63
J-12	480	21.71	24.51	15.39		13.45
J-13	600	17.77	23.56	12.71	11.49	10.31
J-14	720	15.64	16.93	8.12	9.03	7.99
J-15	1440	5.66	6.01	3.46	1.8	2.47
J-16	2040	1.58	1.69	1.15	1.22	0.65
J-17	2880	0.9	nd	0.64	nd	0.47
J-18	4320	nd	nd	nd	nd	nd
Poids (kg)		36	38	39	38	34
Double pesée						
P1 (mg)		14679.6	15298.8	15263.4	15263.6	8957.2
P2 (mg)		6798.3	6863.6	6841	6840.8	5041.8
Densité (mg/mL)		1043	1043	1043	1043	1125.5
Dose (mg)		756	809	808	808	696
Dose ($\mu\text{g/kg}$)		20989.9	21282.7	20705.6	21251.5	20463.6

nd : non déterminé (< LOQ)

Pour la double pesée, P1 représente le poids de la seringue contenant le traitement avant administration et P2 représente le poids de la seringue après administration

Tableau 27 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g/mL}$) pour la brebis K en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées

Numéro de prélèvement	Temps (min)	Période 1	Période 2	Période 3	Période 4	T.L.A. ND
K-2	1	319	290.81	439.78	597.91	343.76
K-3	2	263.67	242.69	321.68	394.84	292.95
K-4	4	204.59	169.61	185.06	259.41	181.6
K-5	8	147.6	100.01	163.41	138.43	128.59
K-6	15	89.39	81.25	108.81	87.5	86.94
K-7	30	54.5	47.14	57.31	53.79	64.92
K-8	60	51.12	32.93	39.61	52.97	46.46
K-9	120	25.83	24.13	29.74	29.14	33.02
K-10	240	15.67	11.23	20.9	20.16	27.33
K-11	360	11.68	10.66	20.03	11.98	21.52
K-12	480	9.94	10.02	16.61	8.18	21.03
K-13	600	4.7	6.1	10.88	5.72	12.37
K-14	720	3.6	5.13	9.35	5.07	11.13
K-15	1440	0.95	0.89	1.62	1.33	2.88
K-16	2040	nd	0.69	0.67	0.53	0.92
K-17	2880	nd	nd	nd	nd	nd
K-18	4320	nd	nd	nd	nd	nd
Poids (kg)		45	47	47	44	45
Double pesée						
P1 (mg)		16637.8	17027.8	17157	16529.4	10185.2
P2 (mg)		6762.2	6864	6866.5	6818.2	5058.1
Densité (mg/mL)		1043	1043	1043	1043	1125.5
Dose (mg)		947	974	987	931	911
Dose ($\mu\text{g/kg}$)		21041.0	20733.6	20992.0	21161.0	20246.2

nd : non déterminé (< LOQ)

Pour la double pesée, P1 représente le poids de la seringue contenant le traitement avant administration et P2 représente le poids de la seringue après administration

Tableau 28 : Concentrations plasmatiques en OTC ($\mu\text{g/mL}$) pour la brebis L en fonction des temps de prélèvement pour les cinq traitements et calcul des doses exactes administrées

Numéro de prélèvement	Temps (min)	Période 1	Période 2	Période 3	Période 4	T.L.A. ND
L-2	1		316.62		480.64	394.75
L-3	2	289.51	219.35	335.81	206.11	319.79
L-4	4	244.03	215.74	205.91	191.39	199.41
L-5	8	145.81	138.11	137.35	105	158.87
L-6	15	89.48	88.77	101.46	53.34	99.13
L-7	30	70.5	60.15	87.62	51.7	66.84
L-8	60	58.84	36.7	59.12	33.96	49.8
L-9	120	33.9	25.65	33.35	23.74	38.19
L-10	240	22.11	12.91	21.4	15.93	25.17
L-11	360	16.97	11.39	17.38	11.29	15.31
L-12	480	10.2	7.46	13.97	7.75	16.65
L-13	600	9.64	5.45	10.05	5.39	15.92
L-14	720	5.44	2.81	8.68	3.92	9.09
L-15	1440	1.05	0.74	2.22	0.78	2.55
L-16	2040	nd	0.06	0.72	nd	0.8
L-17	2880	nd	nd	nd	nd	nd
L-18	4320	nd	nd	nd	nd	nd
Poids (kg)		48	48	51	48	48
Double pesée						
P1 (mg)		17437.9	17507.5	18178	17473.8	10524.1
P2 (mg)		6763.5	6831.7	6910.2	6853.6	5061
Densité (mg/mL)		1043	1043	1043	1043	1125.5
Dose (mg)		1023	1024	1080	1018	971
Dose ($\mu\text{g/kg}$)		21321.5	21324.3	21182.9	21213.2	20224.7

nd : non déterminé (< LOQ)

Pour la double pesée, P1 représente le poids de la seringue contenant le traitement avant administration et P2 représente le poids de la seringue après administration

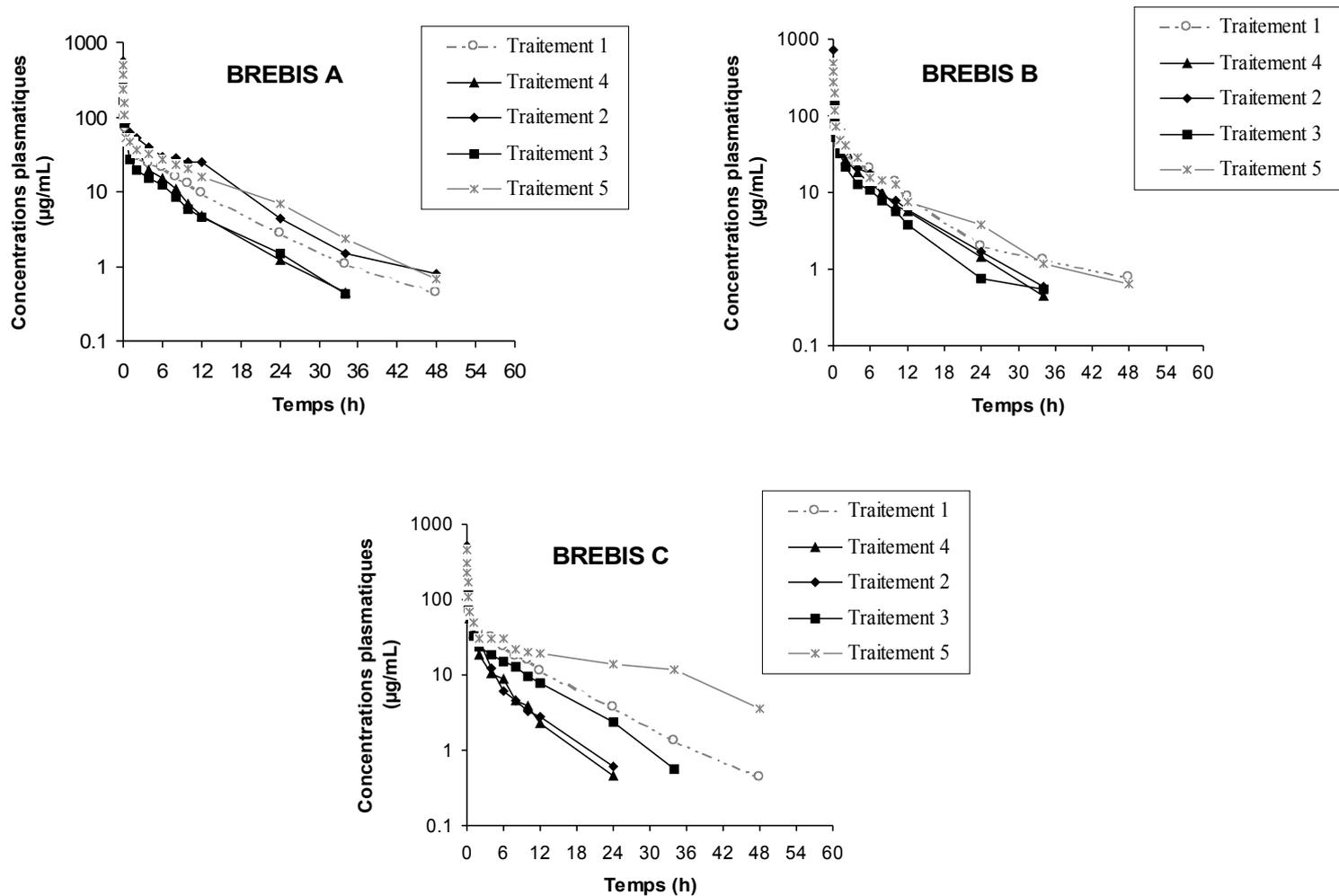


Figure 9 : Représentations graphiques semi-logarithmiques des concentrations plasmatiques d'OTC obtenues chez les brebis A, B et C pour les cinq traitements

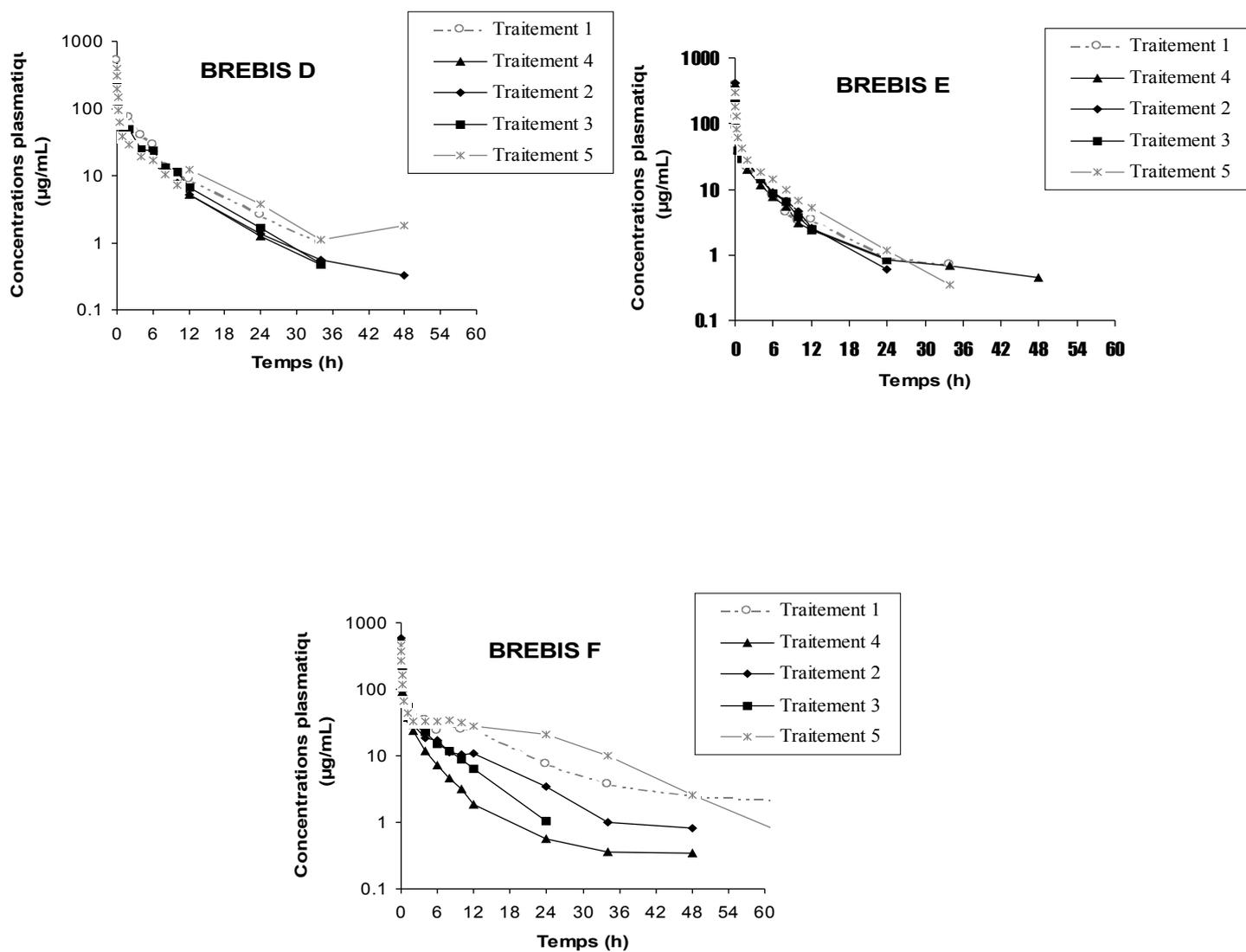


Figure 10 : Représentations graphiques semi-logarithmiques des concentrations plasmatiques d’OTC obtenues chez les brebis D, E et F pour les cinq traitements

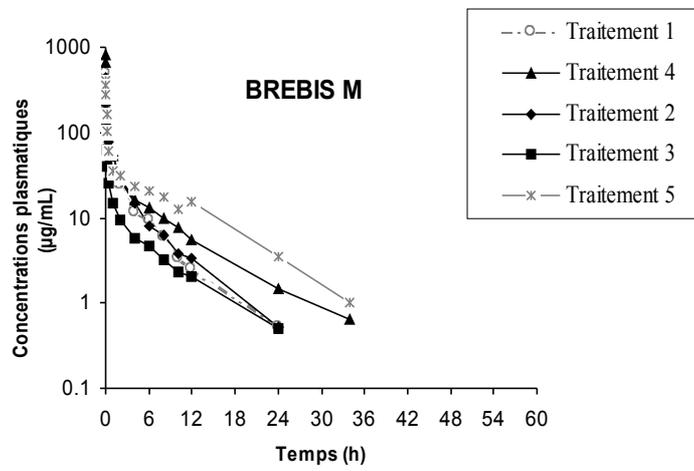
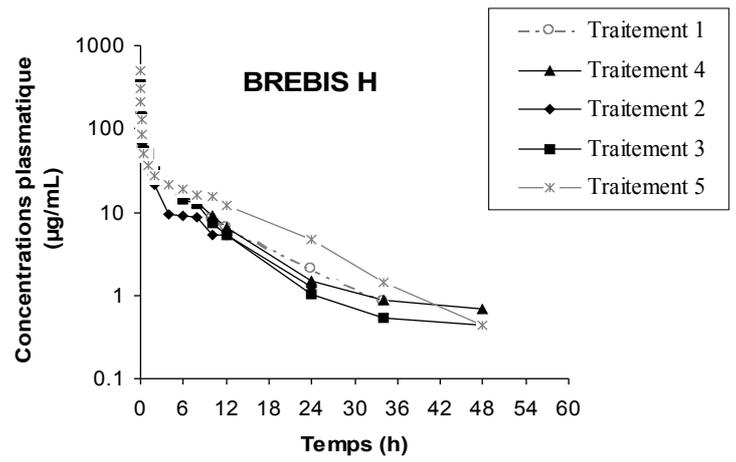
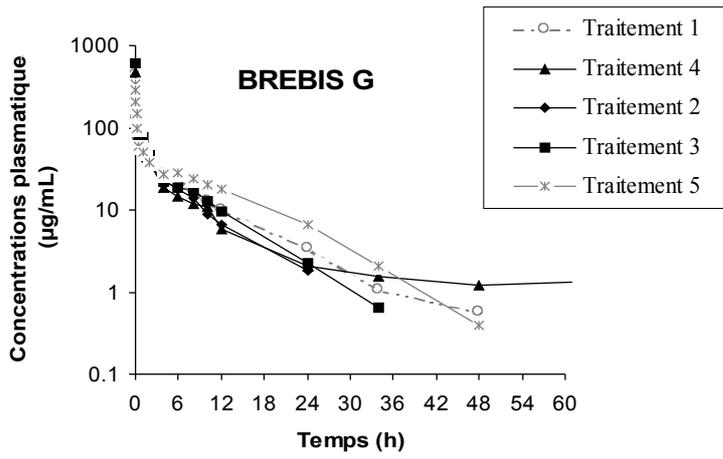


Figure 11 : Représentations graphiques semi-logarithmiques des concentrations plasmatiques d'OTC obtenues chez les brebis G, H et M pour les cinq traitements

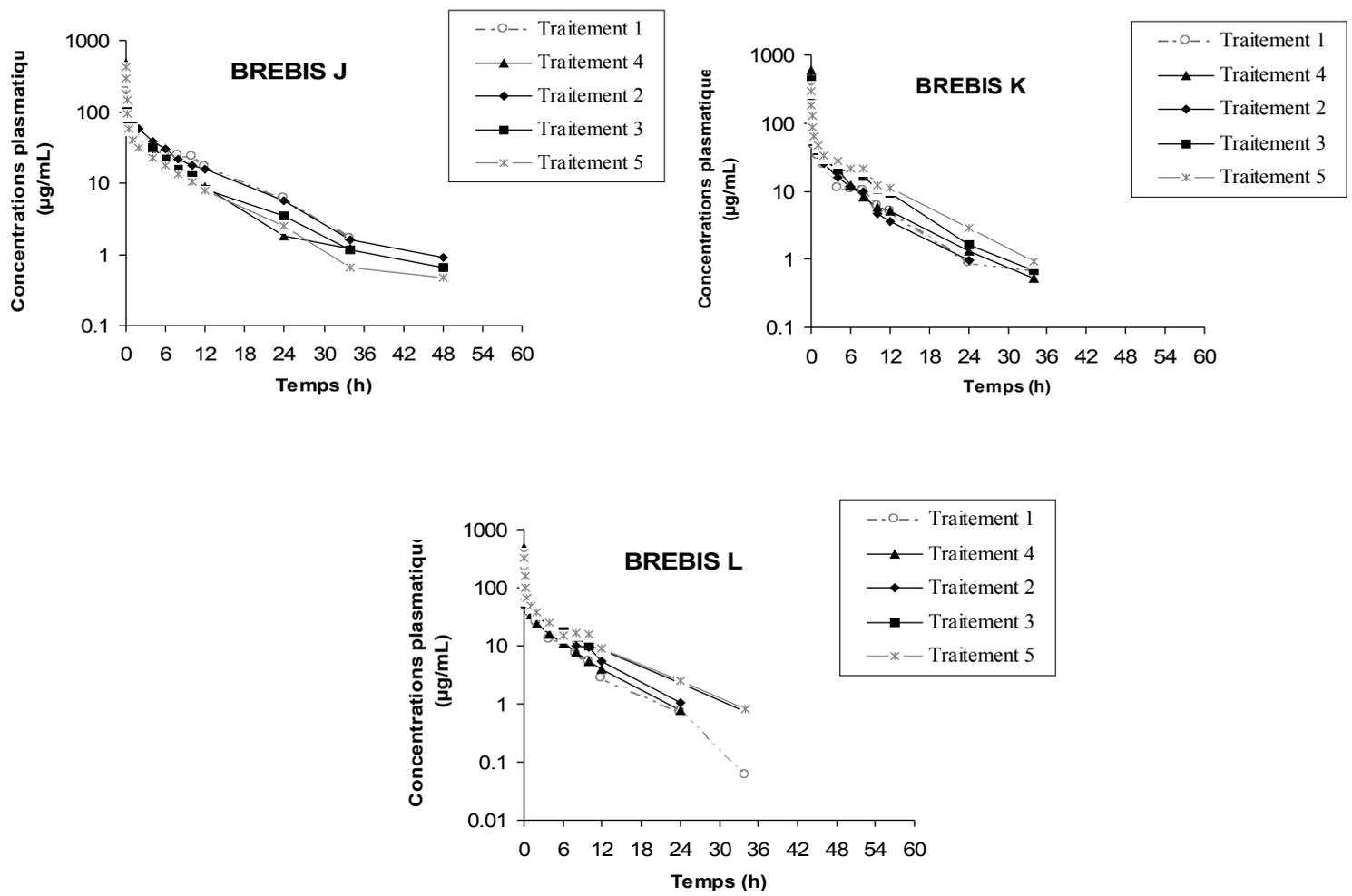


Figure 12 : Représentations graphiques semi-logarithmiques des concentrations plasmatiques d'OTC obtenues chez les brebis J, K et L pour les cinq traitements

ANNEXE 8

Tableau 29 : Concentrations plasmatiques moyennes (\pm SD) des 12 brebis en OTC ($\mu\text{g/mL}$) obtenues pour chaque temps de prélèvement et pour chaque traitement d'OTC (20 mg/kg)

Temps (min)	TRAITEMENTS				
	1	2	3	4	5
1	402.0 \pm 69.44	470.5 \pm 142.75	393.2 \pm 97.70	483.2 \pm 118.17	418.6 \pm 65.67
2	306.4 \pm 48.21	343.2 \pm 90.17	292.7 \pm 63.50	341.9 \pm 118.49	323.6 \pm 38.26
4	224.2 \pm 22.68	239.6 \pm 38.62	199.7 \pm 48.97	243.0 \pm 49.53	219.7 \pm 37.32
8	155.5 \pm 24.28	166.1 \pm 24.52	140.1 \pm 32.42	160.3 \pm 37.79	153.3 \pm 19.55
15	103.6 \pm 14.30	105.0 \pm 18.58	95.1 \pm 23.54	100.1 \pm 24.42	99.3 \pm 12.12
30	66.5 \pm 12.02	67.5 \pm 11.25	60.2 \pm 17.92	61.9 \pm 10.96	61.8 \pm 6.63
60	48.2 \pm 15.29	51.6 \pm 11.32	44.4 \pm 18.70	45.4 \pm 11.88	44.0 \pm 5.44
120	34.4 \pm 14.29	34.2 \pm 11.14	29.2 \pm 10.78	29.3 \pm 6.76	33.0 \pm 4.31
240	23.1 \pm 9.18	20.5 \pm 9.24	19.3 \pm 6.69	17.3 \pm 4.21	25.7 \pm 4.84
360	18.6 \pm 7.08	15.8 \pm 7.98	15.1 \pm 5.52	12.6 \pm 3.34	21.6 \pm 6.23
480	14.7 \pm 7.80	11.6 \pm 6.69	11.6 \pm 4.26	8.8 \pm 2.91	18.5 \pm 6.74
600	11.7 \pm 7.16	9.1 \pm 6.48	8.4 \pm 3.45	6.8 \pm 2.77	15.5 \pm 6.86
720	9.3 \pm 6.63	7.7 \pm 6.59	6.2 \pm 2.60	4.8 \pm 2.01	13.4 \pm 6.18
1440	2.8 \pm 2.16	1.9 \pm 1.65	1.6 \pm 0.85	1.2 \pm 0.49	6.1 \pm 5.79
2040	1.2 \pm 0.94	1.0 \pm 0.49	0.6 \pm 0.21	0.7 \pm 0.39	2.8 \pm 3.83
2880	0.9 \pm 0.86	0.7 \pm 0.26	0.5 \pm 0.14	0.7 \pm 0.39	1.3 \pm 1.20

ANNEXE 9

Tableau 30 : Paramètres PK de l'OTC (analyse non-compartmentale) pour les six premières brebis après administration d'une dose de 20 mg/kg par voie i.v.

Animal	Période	Traitement	AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$)	Cl ($\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$)	V_{ss} (L/kg)
A	1	1	438.0857	0.7918	0.3935
A	2	4	333.9103	1.0419	0.3389
A	3	2	741.9460	0.4669	0.2596
A	4	3	259.5197	1.3364	0.5004
A	5	5	610.8289	0.5581	0.3460
B	1	1	441.7949	0.7908	0.5013
B	2	4	326.2480	1.0596	0.3546
B	3	2	415.0951	0.8369	0.2617
B	4	3	257.3780	1.3459	0.5329
B	5	5	467.2003	0.7381	0.3901
C	1	1	506.9808	0.7046	0.3533
C	2	4	218.7688	1.6103	0.3519
C	3	2	267.3974	1.2805	0.2706
C	4	3	352.2826	0.9755	0.4011
C	5	5	905.5917	0.3792	0.4403
D	1	4	334.9042	1.0403	0.3492
D	2	3	437.1835	0.7958	0.2627
D	3	1	578.1181	0.5882	0.2101
D	4	2	335.9157	1.0458	0.4482
D	5	5	433.1178	0.7824	0.5387
E	1	4	232.1659	1.5177	1.0715
E	2	3	223.0551	1.5571	0.4887
E	3	1	255.0149	1.3422	0.5589
E	4	2	241.3685	1.4408	0.3559
E	5	5	300.7830	1.1438	0.3801
F	1	4	243.9657	1.4224	0.7766
F	2	3	357.5686	0.9962	0.2976
F	3	1	892.4830	0.3849	0.5998
F	4	2	439.0212	0.7981	0.5457
F	5	5	1043.5613	0.3272	0.3183

Tableau 31 : Paramètres PK de l'OTC (analyse non-compartmentale) pour les six dernières brebis après administration d'une dose de 20 mg/kg par voie i.v.

Animal	Période	Traitement	AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$)	Cl ($\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$)	V_{ss} (L/kg)
G	1	3	482.5242	0.7292	0.2619
G	2	2	375.6069	0.9433	0.3519
G	3	4	486.1052	0.7339	1.0173
G	4	1	496.6018	0.7075	0.3596
G	5	5	597.5657	0.5717	0.3385
H	1	3	346.9322	1.0089	0.5362
H	2	2	254.4606	1.3601	0.4938
H	3	4	391.4711	0.8948	0.6305
H	4	1	356.2868	0.9824	0.4147
H	5	5	452.3928	0.7583	0.4398
M	1	3	117.3063	2.9642*	0.9535
M	2	2	280.5774	1.2501	0.2659
M	3	4	368.0984	0.945	0.3125
M	4	1	243.1732	1.4567	0.3247
M	5	5	475.3166	0.7053	0.3462
J	1	2	652.8579	0.5358	0.3195
J	2	1	600.8988	0.5903	0.3228
J	3	3	439.9462	0.7844	0.4486
J	4	4	460.0662	0.7699	0.3479
J	5	5	394.4354	0.8647	0.4747
K	1	2	276.4915	1.2683	0.3769
K	2	1	262.8471	1.3147	0.6230
K	3	3	390.5072	0.8959	0.3650
K	4	4	323.0772	1.0916	0.3665
K	5	5	448.7074	0.7520	0.3429
L	1	2	349.4957	1.0168	0.3030
L	2	1	251.8711	1.4111	0.3508
L	3	3	409.7970	0.8615	0.3385
L	4	4	250.5187	1.4113	0.4148
L	5	5	429.9278	0.7840	0.3299

* valeur aberrante remplacée par sa valeur prédite pour l'analyse statistique (annexe 10)

ANNEXE 10

ANALYSE STATISTIQUE

1. Paramètre Clairance plasmatique totale

D'après le modèle statistique, l'ANOVA donne les résultats suivants :

Categorical values encountered during processing are:

PERIODE (4 levels) 1, 2, 3, 4

ANIMAL (12 levels) A, B, C, D, E, F, G, H, M, J, K, L

SEQUENCE (4 levels) 1, 2, 3, 4

TRAITEMENT (4 levels) 1, 2, 3, 4

Dep Var: CLAIRANCE

N: 48

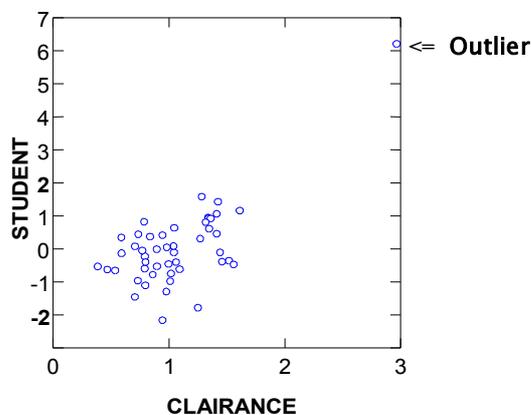
ANALYSIS OF VARIANCE

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
PERIODE	0.861	3	0.287	2.526	0.076
SEQUENCE	0.202	3	0.067	0.594	0.624
TRAITEMENT	0.497	3	0.166	1.460	0.245
ANIMAL (SEQUENCE)	3.247	8	0.406	3.574	0.005
Error	3.407	30	0.114		

*** WARNING ***

Case 41 is an outlier (Studentized Residual = 6.210)

Les résultats PK présentent une valeur aberrante (« Outlier ») : la valeur de la clairance plasmatique de la brebis M lors de la première période (traitement 3). La valeur obtenue avec cette brebis lors de l'étude des résidus studentisés a en effet été largement supérieure à 2 comme le montre le diagramme ci-contre.



Pour ne pas casser l'analyse du plan crossover, nous avons déterminé la valeur de la clairance (de la brebis M, pour la période 1) prédite par le modèle statistique.

Une ANOVA a été faite en enlevant l'outlier afin d'éviter toute « pollution » des résultats (N = 47)

Categorical values encountered during processing are:

TRAITEMENT (4 levels) 1, 2, 3, 4
 SEQUENCE (4 levels) 1, 2, 3, 4
 ANIMAL (12 levels) A, B, C, D, E, F, G, H, M, J, K, L
 PERIODE (4 levels) 1, 2, 3, 4

Dep Var: CLAIRANCE
 N: 47

	CLAIRANCE
CONSTANT	1.028
TRAITEMENT 1	-0.106
TRAITEMENT 2	-0.008
TRAITEMENT 3	0.013
SEQUENCE 1	-0.008
SEQUENCE 2	0.050
SEQUENCE 3	-0.010
PERIODE 1	-0.026
PERIODE 2	0.133
PERIODE 3	-0.193
ANIMAL A	
SEQUENCE 1	-0.111
ANIMAL B	
SEQUENCE 1	-0.012
ANIMAL D	
SEQUENCE 2	-0.210
ANIMAL E	
SEQUENCE 2	0.387
ANIMAL G	
SEQUENCE 3	-0.239
ANIMAL H	
SEQUENCE 3	0.044
ANIMAL J	
SEQUENCE 4	-0.326
ANIMAL K	
SEQUENCE 4	0.147

ANALYSIS OF VARIANCE

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
TRAITEMENT	0.257	3	0.086	1.702	0.188
SEQUENCE	0.044	3	0.015	0.288	0.834
PERIODE	0.755	3	0.252	4.994	0.006
ANIMAL (SEQUENCE)	1.991	8	0.249	4.935	0.001
Error	0.462	29	0.050		

D'après le modèle, la valeur prédite de l'outlier est :

$$Y_M = \mu + T_3 + S_3 + P_1 + A_M/S_3$$

avec $A_G/S_3 + A_H/S_3 + A_M/S_3 = 0$

En remplaçant avec les valeurs numériques obtenues, on trouve :

$$Y_M = 1.028 + 0.013 - 0.01 - 0.026 + (0.239 - 0.044) = 1.2$$

La valeur de l'outlier prédite par le modèle statistique est donc 1.2 mL/min/kg.

Nous avons remplacé dans le plan crossover la valeur de l'outlier par la valeur prédite. La nouvelle ANOVA nous a donné les résultats suivants :

Categorical values encountered during processing are:

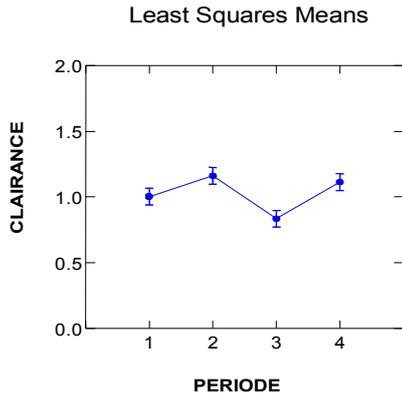
TRAITEMENT (4 levels) 1, 2, 3, 4
 SEQUENCE (4 levels) 1, 2, 3, 4
 ANIMAL (12 levels) A, B, C, D, E, F, G, H, M, J, K, L
 PERIODE (4 levels) 1, 2, 3, 4

Dep Var: CLAIRANCE
 N: 48

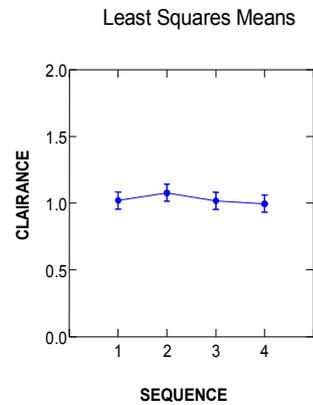
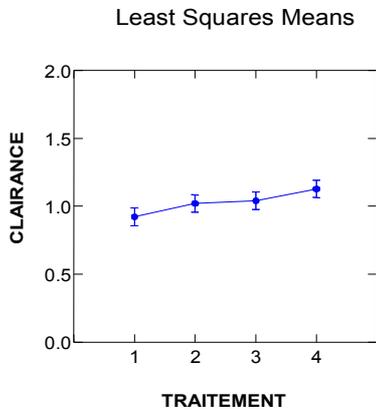
ANALYSIS OF VARIANCE

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
TRAITEMENT	0.258	3	0.086	1.762	0.176
SEQUENCE	0.044	3	0.015	0.299	0.826
PERIODE	0.756	3	0.252	5.173	0.005
ANIMAL (SEQUENCE)	2.039	8	0.255	5.229	0.000
Error	1.462	30	0.049		

CLAIRANCE PAR ANIMAL
(4 traitements confondus)



ANIMAL A	: 0.909
ANIMAL B	: 1.008
ANIMAL C	: 1.143
ANIMAL D	: 0.868
ANIMAL E	: 1.464
ANIMAL F	: 0.900
ANIMAL G	: 0.778
ANIMAL H	: 1.062
ANIMAL M	: 1.213
ANIMAL J	: 0.670
ANIMAL K	: 1.143
ANIMAL L	: 1.175



Seuls deux effets sont significatifs ($P < 0.05$) : l'effet Période et l'effet Animal.

L'effet Séquence doit être testé par rapport à la variance résiduelle adaptée (Animal/Séquence).

Test for effect called: SEQUENCE

TEST OF HYPOTHESIS

Source	SS	df	MS	F	P
Hypothesis	0.044	3	0.015	0.057	0.981
Error	2.040	8	0.255		

L'effet de la Séquence n'est pas significatif.

En ne tenant plus compte du plan crossover, une dernière ANOVA a été réalisée pour les cinq traitements (N = 60) avec comme nouveau modèle statistique :

$$Y = \mu + T + A + \epsilon$$

Categorical values encountered during processing are:

ANIMAL (12 levels) A, B, C, D, E, F, G, H, M, J, K, L
 TRAITEMENT (5 levels) 1, 2, 3, 4, 5

Dep Var: CLAIRANCE
 N: 60

ANALYSIS OF VARIANCE

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
ANIMAL	2.094	11	0.190	3.066	0.004
TRAITEMENT	1.308	4	0.327	5.266	0.001
Error	2.732	44	0.062		

Il y a un effet significatif du traitement (P = 0.001).

Least squares means

	LS Mean	SE	N
ANIMAL A	0.839	0.111	5
ANIMAL B	0.954	0.111	5
ANIMAL C	0.990	0.111	5
ANIMAL D	0.851	0.111	5
ANIMAL E	1.400	0.111	5
ANIMAL F	0.786	0.111	5
ANIMAL G	0.737	0.111	5
ANIMAL H	1.001	0.111	5
ANIMAL J	0.709	0.111	5
ANIMAL K	1.064	0.111	5
ANIMAL L	1.097	0.111	5
ANIMAL M	1.111	0.111	5
	LS Mean	SE	N
TRAITEMENT 1	0.922	0.072	12
TRAITEMENT 2	1.020	0.072	12
TRAITEMENT 3	1.041	0.072	12
TRAITEMENT 4	1.128	0.072	12
TRAITEMENT 5	0.697	0.072	12

La comparaison des 4 traitements du plan crossover a été réalisée avec le traitement 5 par un test de DUNNETT :

Using MSE of 0.062 with 44 df.

Matrix of mean differences from control:

1	0.225
2	0.323
3	0.343
4	0.431
5	0.000

Dunnett Two Sided Test.

Matrix of pairwise comparison probabilities:

1	0.102
2	0.010
3	0.006
4	0.000
5	1.000

2. Paramètre Volume de distribution à l'état d'équilibre

Afin d'obtenir une distribution normale des données, celles-ci ont subi une transformation logarithmique avant d'être analysées. L'analyse a été menée de la même façon qu'avec le paramètre clairance. On a obtenu les résultats suivants :

Pour l'ANOVA du plan crossover :

Categorical values encountered during processing are:

ANIMAL (12 levels) A, B, C, D, E, F, G, H, M, J, K, L
 TRAITEMENT (4 levels) 1, 2, 3, 4

Dep Var: VOLUME DE DISTRIBUTION

N: 48

ANALYSIS OF VARIANCE

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
TRAITEMENT	0.644	3	0.215	1.791	0.170
PERIODE	0.373	3	0.124	1.037	0.390
SEQUENCE	0.432	3	0.144	1.203	0.325
ANIMAL (SEQUENCE)	1.179	8	0.147	1.230	0.316
Error	3.594	30	0.120		

Aucun effet n'est significatif.
 Pour le test de l'effet séquence :

Test for effect called: SEQUENCE

TEST OF HYPOTHESIS					
Source	SS	df	MS	F	P
Hypothesis	0.432	3	0.144	0.981	0.449
Error	1.176	8	0.147		

L'effet de la séquence n'est pas significatif.

En ne tenant plus compte du plan crossover, l'ANOVA a été (pour les cinq traitements) :

Categorical values encountered during processing are:

ANIMAL (12 levels) A, B, C, D, E, F, G, H, M, J, K, L
 TRAITEMENT (5 levels) 1, 2, 3, 4, 5

Dep Var: VOLUME DE DISTRIBUTION
 N: 60

ANALYSIS OF VARIANCE					
Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
TRAITEMENT	0.672	4	0.168	1.552	0.204
ANIMAL	1.120	11	0.102	0.941	0.512
Error	4.763	44	0.108		

Il n'y a donc pas d'effet du traitement.

SOMMAIRE

PLAN.....	7
ABREVIATIONS ET GLOSSAIRE PHARMACOCINETIQUE.....	9
TABLES DES ILLUSTRATIONS.....	13
INTRODUCTION.....	20
<u>PREMIERE PARTIE : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES.....</u>	<u>22</u>
I. DONNEES GENERALES SUR L'OXYTETRACYCLINE.....	23
I.1. HISTORIQUE.....	23
I.2. PRINCIPALES PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES.....	26
I.3. MODE D'ACTION, SPECTRE ET RESISTANCES.....	29
I.4. EFFETS INDESIRABLES ET TOXICITE.....	34
II. LA 2-pyrrolidone.....	37
II.1. GENERALITES.....	37
<i>II.1.1. DESCRIPTION.....</i>	<i>37</i>
<i>II.1.2. UTILISATION.....</i>	<i>37</i>
<i>II.1.3. TOXICITÉ.....</i>	<i>37</i>
II.2. LA 2-PYRROLIDONE ET L'OTC LONGUE ACTION.....	39
II.3. LA 2-PYRROLIDONE ENDOGENE.....	39
III. DONNEES PHARMACOCINETIQUES SUR L'OXYTETRACYCLINE.....	41
III.1. GENERALITES.....	41
<i>III.1.1. ABSORPTION.....</i>	<i>41</i>
<i>III.1.2. FIXATION AUX PROTÉINES PLASMATIQUES.....</i>	<i>42</i>
<i>III.1.3. DISTRIBUTION.....</i>	<i>43</i>
<i>III.1.4. MÉTABOLISME ET ELIMINATION.....</i>	<i>44</i>
III.2. PHARMACOCINETIQUE DE L'OTC INJECTEE PAR VOIE I.V.....	45
<i>III.2.1. FORMULATIONS « SHORT-ACTING ».....</i>	<i>46</i>
<i>III.2.2. FORMULATIONS « LONG-ACTING ».....</i>	<i>50</i>
III.3. PHARMACOCINETIQUE DE L'OTC INJECTEE PAR VOIE I.M.....	53
<i>III.3.1. FORMULATIONS S.A. VS FORMULATIONS L.A. : L'EFFET LONGUE ACTION..</i>	<i>53</i>
<i>III.3.1.1. ADMINISTRATION D'UNE MEME DOSE DE TERRAMYCINE 100 SOL. INJ. ND</i>	
<i>ET DE T.L.A ND.....</i>	<i>53</i>
<i>III.3.1.2. ADMINISTRATION UNIQUE DE LA FORMULATION L.A. VS</i>	
<i>ADMINISTRATIONS REPETEES DE LA FORMULATION S.A.</i>	<i>56</i>
<i>III.3.2. DONNEES CHEZ LE MOUTON.....</i>	<i>58</i>
<u>DEUXIEME PARTIE : DONNEES EXPERIMENTALES.....</u>	<u>59</u>
I. PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS.....	60
II. MATERIELS ET METHODES.....	63
II.1. ETUDE 1 : TOLERANCE AIGUE DE LA 2-PYRROLIDONE.....	63
II.2. ETUDE 2 : DOSE RESIDUELLE INTRA-CATHETER.....	63
II.3. ETUDE 3 : DUREE DE LA PERIODE DE «WASHOUT».....	63
II.4. ETUDE 4 : STABILITE DE L'OTC DANS LE SANG TOTAL.....	63
<i>II.4.1. ANIMAUX ET PRODUITS.....</i>	<i>63</i>
<i>II.4.2. ADMINISTRATIONS ET PRELEVEMENTS.....</i>	<i>64</i>
<i>II.4.3. PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS.....</i>	<i>64</i>
<i>II.4.4. PHASE ANALYTIQUE ET ANALYSE DES DONNÉES.....</i>	<i>65</i>
II.5. ETUDE 5 : EFFETS DE LA 2-PYRROLIDONE SUR LES PARAMETRES	
PHARMACOCINETIQUES DE L'OTC INJECTEE PAR VOIE I.V. CHEZ LE	
MOUTON.....	65
<i>II.5.1. ANIMAUX.....</i>	<i>65</i>
<i>II.5.2. PRODUITS.....</i>	<i>66</i>
<i>II.5.3. ADMINISTRATIONS.....</i>	<i>67</i>

<i>II.5.4. PRELEVEMENTS SANGUINS</i>	67
<i>II.5.5. METHODE ANALYTIQUE</i>	68
<i>II.5.6. ANALYSE PHARMACOCINETIQUE</i>	69
<i>II.5.7. ANALYSE STATISTIQUE</i>	69
III. RESULTATS	71
III.1. ETUDE 1 : TOLERANCE AIGUE DE LA 2-PYRROLIDONE.....	71
III.2. ETUDE 2 : DOSE RESIDUELLE INTRA-CATHETER.....	71
III.3. ETUDE 3 : DUREE DE LA PERIODE DE «WASHOUT».....	71
III.4. ETUDE 4 : STABILITE DE L'OTC DANS LE SANG TOTAL.....	71
III.5. ETUDE 5 : EFFETS DE LA 2-PYRROLIDONE SUR LES PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES DE L'OTC INJECTEE PAR VOIE I.V. CHEZ LE MOUTON.....	75
IV. DISCUSSION	79
CONCLUSION	83
BIBLIOGRAPHIE	86
ANNEXES	100
ANNEXE 1.....	101
ANNEXE 2.....	102
ANNEXE 3.....	103
ANNEXE 4.....	104
ANNEXE 5.....	106
ANNEXE 6.....	107
ANNEXE 7.....	108
ANNEXE 8.....	124
ANNEXE 9.....	125
ANNEXE 10.....	127
SOMMAIRE	134
PLAN	7
ABREVIATIONS ET GLOSSAIRE PHARMACOCINETIQUE	9
TABLES DES ILLUSTRATIONS	13
INTRODUCTION	20
<u>PREMIERE PARTIE : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES</u>	22
I. DONNEES GENERALES SUR L'OXYTETRACYCLINE	23
I.1. HISTORIQUE.....	23
I.2. PRINCIPALES PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES.....	26
I.3. MODE D'ACTION, SPECTRE ET RESISTANCES.....	29
I.4. EFFETS INDESIRABLES ET TOXICITE.....	34
II. LA 2-pyrrolidone	37
II.1. GENERALITES.....	37
<i>II.1.1. DESCRIPTION</i>	37
<i>II.1.2. UTILISATION</i>	37
<i>II.1.3. TOXICITE</i>	37
II.2. LA 2-PYRROLIDONE ET L'OTC LONGUE ACTION.....	39
II.3. LA 2-PYRROLIDONE ENDOGENE.....	39
III. DONNEES PHARMACOCINETIQUES SUR L'OXYTETRACYCLINE	41
III.1. GENERALITES.....	41
<i>III.1.1. ABSORPTION</i>	41
<i>III.1.2. FIXATION AUX PROTÉINES PLASMATIQUES</i>	42
<i>III.1.3. DISTRIBUTION</i>	43

III.1.4. MÉTABOLISME ET ELIMINATION.....	44
III.2. PHARMACOCINETIQUE DE L'OTC INJECTEE PAR VOIE I.V.....	45
III.2.1. FORMULATIONS « SHORT-ACTING ».....	46
III.2.2. FORMULATIONS « LONG-ACTING ».....	50
III.3. PHARMACOCINETIQUE DE L'OTC INJECTEE PAR VOIE I.M.....	53
III.3.1. FORMULATIONS S.A. VS FORMULATIONS L.A. : L'EFFET LONGUE ACTION..	53
III.3.1.1. ADMINISTRATION D'UNE MEME DOSE DE TERRAMYCINE 100 SOL. INJ. ND ET DE T.L.A ND.....	53
III.3.1.2. ADMINISTRATION UNIQUE DE LA FORMULATION L.A. VS ADMINISTRATIONS REPETEES DE LA FORMULATION S.A.	56
III.3.2. DONNEES CHEZ LE MOUTON.....	58
DEUXIEME PARTIE : DONNEES EXPERIMENTALES.....	59
I. PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS.....	60
II. MATERIELS ET METHODES.....	63
II.1. ETUDE 1 : TOLERANCE AIGUE DE LA 2-PYRROLIDONE.....	63
II.2. ETUDE 2 : DOSE RESIDUELLE INTRA-CATHETER.....	63
II.3. ETUDE 3 : DUREE DE LA PERIODE DE «WASHOUT».....	63
II.4. ETUDE 4 : STABILITE DE L'OTC DANS LE SANG TOTAL.....	63
II.4.1. ANIMAUX ET PRODUITS.....	63
II.4.2. ADMINISTRATIONS ET PRELEVEMENTS.....	64
II.4.3. PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS.....	64
II.4.4. PHASE ANALYTIQUE ET ANALYSE DES DONNÉES.....	65
II.5. ETUDE 5 : EFFETS DE LA 2-PYRROLIDONE SUR LES PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES DE L'OTC INJECTEE PAR VOIE I.V. CHEZ LE MOUTON.....	65
II.5.1. ANIMAUX.....	65
II.5.2. PRODUITS.....	66
II.5.3. ADMINISTRATIONS.....	67
II.5.4. PRELEVEMENTS SANGUINS.....	67
II.5.5. METHODE ANALYTIQUE.....	68
II.5.6. ANALYSE PHARMACOCINETIQUE.....	69
II.5.7. ANALYSE STATISTIQUE.....	69
III. RESULTATS.....	71
III.1. ETUDE 1 : TOLERANCE AIGUE DE LA 2-PYRROLIDONE.....	71
III.2. ETUDE 2 : DOSE RESIDUELLE INTRA-CATHETER.....	71
III.3. ETUDE 3 : DUREE DE LA PERIODE DE «WASHOUT».....	71
III.4. ETUDE 4 : STABILITE DE L'OTC DANS LE SANG TOTAL.....	71
III.5. ETUDE 5 : EFFETS DE LA 2-PYRROLIDONE SUR LES PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES DE L'OTC INJECTEE PAR VOIE I.V. CHEZ LE MOUTON.....	75
IV. DISCUSSION.....	79
CONCLUSION.....	83
BIBLIOGRAPHIE.....	86
ANNEXES.....	100
ANNEXE 1.....	101
ANNEXE 2.....	102
ANNEXE 3.....	103
ANNEXE 4.....	104
ANNEXE 5.....	106
ANNEXE 6.....	107

ANNEXE 7.....	108
ANNEXE 8.....	124
ANNEXE 9.....	125
ANNEXE 10.....	127
SOMMAIRE.....	134

Nom : SPERANZA

Prénom : Estève

Titre : **Effet de la 2-pyrrolidone sur les paramètres pharmacocinétiques de l'oxytétracycline administrée par voie intraveineuse chez le mouton**

Toulouse, 2001

RESUME DE LA THESE

L'oxytétracycline (OTC) est un antibiotique de la famille des tétracyclines disponible en médecine vétérinaire sous deux formulations injectables : une conventionnelle et une "longue action". Cette dernière, destinée à la voie intramusculaire, comporte pour principal excipient la 2-pyrrolidone (2-P). La première partie de cette thèse rappelle les données bibliographiques de l'OTC, la 2-P et la pharmacocinétique des différentes formulations d'OTC. La deuxième partie présente spécifiquement l'étude de l'effet de la 2-P sur les paramètres pharmacocinétiques de l'OTC. Des doses de 20 mg/kg d'OTC conventionnelle seule ou mélangée à des quantités croissantes de 2-P ont été administrées par voie intraveineuse à 12 ovins selon un plan crossover à 4 périodes. Toutes les brebis ont ensuite reçu une administration de la formulation "longue action" par voie intraveineuse à la dose de 20 mg/kg. Les résultats principaux de cette étude sont que, par comparaison à la formulation conventionnelle, la 2-P n'influence pas la pharmacocinétique de l'OTC, et qu'il n'existe pas de différence pharmacocinétique entre la formulation conventionnelle et la formulation "longue action" après une administration intraveineuse.

Mots-clés : **pharmacocinétique, clairance, excipient, antibiotique, tétracycline, oxytétracycline, ovin**

English title : **Effect of 2-pyrrolidone on pharmacokinetic parameters of oxytetracycline administered intravenously in ewes**

ABSTRACT

Oxytetracycline (OTC), an antibiotic of the tetracycline family, is used in veterinary medicine as a "short-acting" and a "long-acting" injectable formulation for intramuscular use. The main excipient of this latter is 2-pyrrolidone (2-P). A survey, based upon available information in the literature on OTC, 2-P and disposition of "short-acting" and "long-acting" OTC formulations, is made in the first part of this work. In the second part, the results of an experimental study on the effect of 2-P on the pharmacokinetic parameters of OTC in 12 ewes are reported. A 4-way crossover experiment was performed. 20 mg/kg of a "short-acting" formulation was administered intravenously alone or with increasing doses of 2-P. At the end of this experiment, all ewes received intravenously 20 mg/kg of a "long-acting" formulation. In this study, 2-P did not change any pharmacokinetic parameter of the OTC "short-acting" formulation, and pharmacokinetics of intravenously administered "long-acting" and "short-acting" formulations did not significantly differ.

Key words : **pharmacokinetics, clearance, vehicle, antibiotic, tetracycline, oxytetracycline, ovine**