

Comment assurer l'exposition adéquate d'une population d'agneaux lors de l'administration d'antibiotiques via l'eau de boisson en atelier d'engraissement ovin

ROQUES B. B. (1), LACROIX M. Z. (1), FOUZARI L. (1), FERRAN A. A. (1), CONCORDET D. (1), BOUSQUET-MELOU A. (1)

(1) INTHERES, Université de Toulouse, INRA, ENVT, Toulouse, France – 23 chemin des Capelles 31076 Toulouse cedex 03

RESUME

Pour prévenir l'apparition de pathologies infectieuses chez l'agneau en atelier d'engraissement, des antibiotiques sont systématiquement administrés dans l'aliment pendant la phase de démarrage. Cependant, les traitements préventifs devraient être évités du fait de leur rôle potentiel dans la sélection de résistances aux antibiotiques chez les animaux de rente. L'utilisation métabolactique des antibiotiques, qui consiste à traiter conjointement tous les animaux dès qu'une maladie est détectée chez certains animaux, est une alternative. Dans ce contexte, l'administration collective des antibiotiques via l'eau de boisson constitue une stratégie prometteuse. Cependant, les doses réellement ingérées sont dépendantes du comportement individuel d'abreuvement, ce qui peut conduire à une sous-exposition de certains animaux aux antibiotiques et à de potentiels échecs thérapeutiques. Nous avons alors proposé de mettre au point une méthode afin d'optimiser l'administration collective des antibiotiques via l'eau de boisson. Cette méthode est présentée ici pour l'association de deux antibiotiques couramment utilisés en atelier d'engraissement en France, l'association Sulfadiméthoxine (SDM) / Triméthoprime (TMP). Dans un premier temps, nous avons déterminé en laboratoire les paramètres pharmacocinétiques de la SDM et du TMP après une administration par voie orale chez des agneaux juste après le sevrage (agneaux pré-ruminants) et deux semaines plus tard (agneaux ruminants). Dans un second temps, en atelier d'engraissement, nous avons administré l'association SDM/TMP via l'eau de boisson à 200 agneaux d'environ 40 jours. Nous avons déterminé les concentrations en SDM et en TMP retrouvées dans le plasma et dans les abreuvoirs et, dans le même temps, la consommation d'eau individuelle en temps réel pendant le traitement afin de caractériser la variabilité interindividuelle des concentrations plasmatiques et de la consommation d'eau. À terme, en utilisant les données obtenues en laboratoire et en atelier d'engraissement, un modèle pharmaco-statistique sera construit en incorporant l'évolution temporelle des concentrations d'eau dans un modèle pharmacocinétique classique qui sera capable de prédire les concentrations plasmatiques réellement observées chez les agneaux à l'engraissement. Un tel modèle permettra de prédire, pour n'importe quel antibiotique, l'impact du comportement individuel d'abreuvement sur l'exposition plasmatique individuelle, et de proposer des schémas posologiques optimisés adaptés aux spécificités du comportement de l'animal, quelle que soit l'espèce animale.

How to ensure an adequate exposure of a lamb population when antibiotics are administered via drinking water in sheep fattening houses

ROQUES B. B. (1), LACROIX M. Z. (1), FOUZARI L. (1), FERRAN A. A. (1), CONCORDET D. (1), BOUSQUET-MELOU A. (1)

(1) INTHERES, Université de Toulouse, INRA, ENVT, Toulouse, France – 23 chemin des Capelles 31076 Toulouse cedex 03

SUMMARY

To prevent the development of infectious diseases in sheep fattening houses, antibiotics are systematically administered in food during the fattening start phase. However, preventive treatments should be avoided due to their potential role in the selection of antimicrobial resistance in food-producing animals. One alternative is the metaphylactic use of antibiotics consisting in a collective treatment as soon as the disease is detected in some animals. The collective delivery of antibiotics via drinking water is a promising strategy in this context, but the actually ingested doses are dependent on the individual drinking behaviors which could lead to an under exposure of some animals to the antibiotics potentially responsible for therapeutic failures. Thus, we proposed to develop a method to optimize the collective delivery of antibiotics via drinking water. It is presented here for the association of two antibiotics currently used in sheep fattening houses in France, the sulfadimethoxine (SDM) / trimethoprim (TMP) association. As a first step, we determined in our lab the pharmacokinetic parameters of SDM and TMP after an oral administration in lambs just after weaning (pre-ruminating lambs) and two weeks later (ruminating lambs). As a second step, in a sheep fattening house, we administered the SDM/TMP association via drinking water to 200 lambs of about 40 days. We determined the SDM and TMP concentrations in plasma and in waterers and, in the same time, the individual real-time water consumption during the treatment in order to characterize the interindividual variability of plasma concentrations and of water consumption. Ultimately, using the data obtained from the experiments conducted in our laboratory and in the fattening house, a pharmaco-statistical model would be built by incorporating the time series of water consumption in a classical pharmacokinetic model that will be able to predict plasma concentrations actually observed in fattening lambs. Such model will allow to predict for any antibiotic the impact of individual drinking behaviors on individual plasma exposure, and to propose improved dosage regimens adapted to the specificity of animal behaviors, whatever the animal species.

INTRODUCTION

En France, trois méthodes d'administration des antibiotiques sont utilisées dans les ateliers d'engraissement ovins : une administration préventive par l'administration systématique d'un aliment médicamenteux pendant la phase de démarrage, et deux types de traitements quand certains animaux présentent des signes cliniques, soit un traitement curatif des animaux malades seulement via des injections intramusculaires, soit un traitement métaphylactique des animaux malades et des animaux sains via l'administration d'antibiotiques dans l'eau de boisson. Le traitement préventif des animaux est remis en question avec le Plan ECOANTIBIO et devrait être évité du fait de son rôle potentiel dans la sélection de résistances aux antibiotiques chez les animaux de rente. Le traitement curatif individuel quant à lui ne permet pas de traiter un grand nombre d'animaux, contrairement au traitement via l'eau de boisson qui permet de traiter des lots d'animaux très rapidement. Cependant, le comportement d'abreuvement individuel des agneaux peut conduire à une sous-exposition de certains animaux. En effet, il a été montré par Soraci *et al.* (2014) chez le porc que, même si cela restait moins marqué qu'après une administration dans l'aliment, l'exposition des animaux à un antibiotique, la fosfomycine, était variable d'un porc à l'autre lors de son administration dans l'eau de boisson. Nous avons donc mis au point une méthode permettant d'optimiser l'administration collective d'un antibiotique via l'eau de boisson. Dans un premier temps, nous avons déterminé, en laboratoire, les paramètres pharmacocinétiques de l'antibiotique après une administration par voie orale et par voie intraveineuse à des agneaux. En parallèle, nous avons étudié l'impact du statut ruminal des animaux sur ces paramètres pharmacocinétiques. Dans un second temps, nous avons cherché à caractériser, en atelier d'engraissement ovin, les comportements d'abreuvement individuels et leurs impacts sur les variations interindividuelles des doses ingérées. Les résultats obtenus avec cette méthode sont présentés pour l'association de deux antibiotiques couramment utilisés en atelier d'engraissement, l'association Sulfadiméthoxine (SDM) / Triméthoprime (TMP).

1. MATERIEL ET METHODES

1.1 PREMIERE ETAPE EN LABORATOIRE : PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES DE LA SULFADIMETHOXINE ET DU TRIMETHOPRIME

Huit agneaux (4 mâles et 4 femelles) de race Lacaune d'environ 1 mois ont été fournis par la coopérative agricole Arterris (Castelnaudary, France). Le sevrage a été effectué le jour de leur arrivée en bergerie, comme c'est le cas lors de leur entrée en atelier d'engraissement. Les agneaux étaient alors nourris à volonté avec un aliment démarrage pendant 10 jours puis avec un aliment d'entretien, cet aliment étant identique à celui utilisé en atelier d'engraissement et exempt d'antibiotique. Les agneaux avaient également un libre accès à l'eau et à de la paille. Ils ont reçu une administration de diclazuril à leur arrivée et 10 jours après (Vecoxan 2,5 mg/mL, 1 mg/kg, Elanco, Neuilly sur Seine, France) afin de réduire les risques de coccidiose. Six jours après leur arrivée, les 8 agneaux ont reçu un bolus par voie orale de sulfadiméthoxine/triméthoprime (Trisulmix® Liquide, 24,7 mg/kg SDM + 5,3 mg/kg TMP, Coophavet, Ancenis, France) et des prélèvements sanguins ont été réalisés juste avant l'administration et 15 min, 1h30, 2h, 2h30, 4h, 6h, 9h, 24h, 30h, 48h et 72h après l'administration. Sept jours plus tard, les mêmes agneaux ont reçu un bolus par voie intraveineuse de sulfadiméthoxine/triméthoprime (Trisulmix® Injectable, 24,7 mg/kg SDM + 5,3 mg/kg TMP, Coophavet, Ancenis, France) et des prélèvements sanguins ont été réalisés juste avant l'administration et 5 min, 15 min, 30 min, 1h, 2h, 4h, 6h, 9h, 24h, 30h, 48h et 72h après l'administration, afin de déterminer la biodisponibilité par voie orale de la

sulfadiméthoxine et du triméthoprime. Enfin, encore sept jours plus tard, l'administration par voie orale a été répétée sur les mêmes agneaux afin de déterminer si les paramètres pharmacocinétiques de la sulfadiméthoxine et/ou du triméthoprime étaient influencés par le statut ruminal des agneaux. Les prélèvements de sang ont été collectés dans des tubes héparinés, centrifugés à 3000 x g pendant 10 min à +4°C, et le plasma collecté a été conservé à -20°C avant dosage par UPLC/MS/MS. La limite de quantification (LOQ) du dosage était de 0.1 µg/mL pour la sulfadiméthoxine et de 0.01 µg/mL pour le triméthoprime. Les paramètres pharmacocinétiques de la sulfadiméthoxine et du triméthoprime après les voies orales et intraveineuse ont été déterminés à l'aide du logiciel Phoenix® (Phoenix, WinNonlin 6.4, NLME 1.6, Certara L. P., Pharsight, St-Louis, MO, USA). L'influence du statut ruminal sur les paramètres pharmacocinétiques de la sulfadiméthoxine après administration par voie orale a été analysée par un test non paramétrique pour données appariées (Wilcoxon) à l'aide du logiciel R® (R 3.4.3, R Development Core Team, Vienne, Autriche).

1.2 SECONDE ETAPE EN ATELIER D'ENGRASSEMENT : COMPORTEMENTS INDIVIDUELS D'ABREUUREMENT ET VARIATIONS INTERINDIVIDUELLES DES DOSES INGEREES

L'expérimentation s'est déroulée dans l'un des ateliers d'engraissement de la coopérative agricole Arterris à Castelnaudary. Deux cent agneaux de race Lacaune d'environ 40 jours ont reçu un traitement sulfadiméthoxine/triméthoprime via l'eau de boisson pendant 4 jours (Trisulmix® Liquide, 37,4 mg/kg/24h SDM + 8,0 mg/kg/24h TMP, Coophavet, Ancenis, France). Ils étaient répartis dans deux loges de 100 agneaux (50 mâles et 50 femelles) chacune, les agneaux de la loge 2 étant les seuls sur lesquels nous avons fait des prises de sang. Les consommations d'eau individuelles en temps réel de tous les agneaux ont été déterminées pendant la durée du traitement, pendant les trois jours précédents et pendant les trois jours suivant l'arrêt du traitement grâce à des compteurs d'eau connectés aux abreuvoirs détectant les puces RFID placées dans les boucles auriculaires d'identification des agneaux. Des prélèvements d'eau ont été réalisés pendant toute la durée du traitement dans les deux abreuvoirs de chacune des deux loges avant le renouvellement du traitement dans la pompe doseuse chaque matin et 1h, 4h, 8h et 12h après, ainsi qu'une fois par jour pendant les 4 jours suivant l'arrêt du traitement. Les prélèvements d'eau ont été collectés dans des flacons stockés à +4°C jusqu'aux dosages. Les agneaux de la loge 2 ont été répartis en 4 lots de 25 agneaux et des prélèvements sanguins ont été réalisés au 2^{ème} jour de traitement (un seul prélèvement sur les 100 agneaux), au 3^{ème} jour de traitement (un seul prélèvement sur les 100 agneaux), et au 4^{ème} jour de traitement (12 temps de prélèvements répartis entre 07h30 et 18h30 avec 4 lots de 25 agneaux prélevés en alternance à chaque temps de prélèvement). Les prélèvements de sang ont été collectés dans des tubes héparinés, centrifugés à 3000 x g pendant 10 min à +4°C, et le plasma collecté a été conservé à -20°C. Les dosages dans l'eau et le plasma ont été réalisés par UPLC/UV. La LOQ du dosage pour la sulfadiméthoxine était de 1 µg/mL dans le plasma et de 5 µg/mL dans l'eau. La limite de quantification du dosage pour le triméthoprime était de 1 µg/mL dans le plasma et de 0,5 µg/mL dans l'eau. L'influence de la période sur la consommation d'eau journalière individuelle a été analysée avec une ANOVA à un facteur en poolant les données de chaque période (période 1 : avant traitement, période 2 : pendant le traitement, période 3 : après le traitement) à l'aide du logiciel R®.

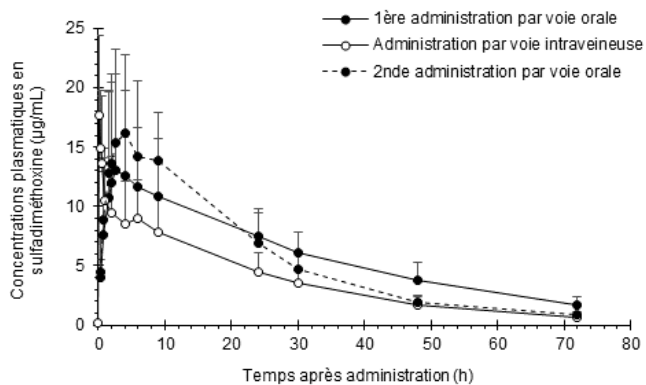


Figure 1 Concentrations plasmatiques en sulfadiméthoxine après administration d'un bolus par voie orale ou intraveineuse de sulfadiméthoxine/triméthoprime à huit agneaux

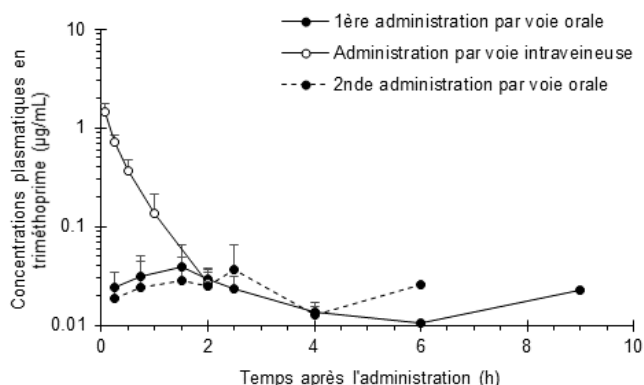


Figure 2 Concentrations plasmatiques en triméthoprime après administration d'un bolus par voie orale ou intraveineuse de sulfadiméthoxine/triméthoprime à huit agneaux

2. RESULTATS

2.1 PREMIERE ETAPE EN LABORATOIRE : PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES DE LA SULFADIMETHOXINE ET DU TRIMETHOPRIME

Les concentrations plasmatiques en sulfadiméthoxine restaient supérieures à la LOQ du dosage de 0.1 µg/mL jusqu'à 72h après administration d'un bolus de SDM/TMP par voie orale ou par voie intraveineuse (Figure 1). Les concentrations plasmatiques en triméthoprime étaient quant à elle supérieures à 0.01 µg/mL seulement jusqu'à 2h après l'administration intraveineuse et seulement jusqu'à 9h et 6h pour, respectivement, la 1^{ère} et la 2^{nde} administration par voie orale (Figure 2). Les profils d'évolution des concentrations plasmatiques pour la sulfadiméthoxine comme pour le triméthoprime étaient semblables après administration par voie orale aux agneaux juste après sevrage et deux semaines après. Les paramètres pharmacocinétiques de la sulfadiméthoxine après analyse des données à l'aide d'un modèle noncompartmental sont présentés dans le Tableau 1. Les paramètres pharmacocinétiques du triméthoprime n'ont pas pu être estimés précisément compte-tenu du peu de prélèvements avec des concentrations plasmatiques supérieures à la LOQ du dosage. Le statut ruminal aurait une influence sur l'AUC (Area Under Curve), la clairance et le temps de demi-vie ($t_{1/2}$) de la sulfadiméthoxine. En revanche, la concentration maximale (C_{max}), le temps auquel cette concentration est atteinte (T_{max}), le volume de distribution (Vd) et la biodisponibilité de la molécule ne sont pas significativement différents ($p > 0,05$) après la 1^{ère} administration et après la 2^{nde} administration par voie orale.

Tableau 1 Paramètres pharmacocinétiques de la sulfadiméthoxine après administration d'un bolus de sulfadiméthoxine/triméthoprime par voie orale ou intraveineuse à huit agneaux

	V. orale 1	IV	V. orale 2
C_{max} (µg/mL)	16,0 ± 9,9	18,0 ± 6,5	17,8 ± 6,2
T_{max} (h)	5,1 ± 2,3	-	4,7 ± 2,8
AUC (mg.h/mL)	0,5 ± 0,2	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,1*
Cl/F (mL/min/kg)	0,7 ± 0,3	1,1 ± 0,4	0,9 ± 0,2*
$t_{1/2}$ (h)	24,2 ± 4,4	17,3 ± 2,3	17,8 ± 5,4*
Vd (L/kg)	1,5 ± 0,6	1,7 ± 0,5	1,4 ± 0,6
F	1,1 ± 0,2	-	1,3 ± 0,2

Comparaison des deux voies orales : * $p < 0,05$

2.2 SECONDE ETAPE EN ATELIER D'ENGRASSEMENT : COMPORTEMENTS INDIVIDUELS D'ABREUUREMENT ET VARIATIONS INTERINDIVIDUELLES DES DOSES INGEREES

Les valeurs de consommation d'eau journalière individuelle sur les 10 jours de relevés variaient de 0 à 9,8 L (Figure 3). Le volume moyen consommé sur la période était de 2,1 ± 1,2 L/j. La consommation d'eau journalière individuelle était très variable d'un agneau à l'autre pour le même jour de traitement et très variable d'un jour à l'autre pour le même agneau. Elle était significativement différente ($p < 0,05$) entre la période avant traitement et les deux autres périodes. Comme pour la consommation d'eau journalière individuelle, le cycle circadien était différent pour chaque agneau (Figure 4). Une tendance pour tous les agneaux a tout de même été détectée avec une consommation d'eau plus importante entre 10h et 20h et une consommation d'eau plus faible durant la nuit. Deux pics de consommation étaient observables à environ 12h et 16h.

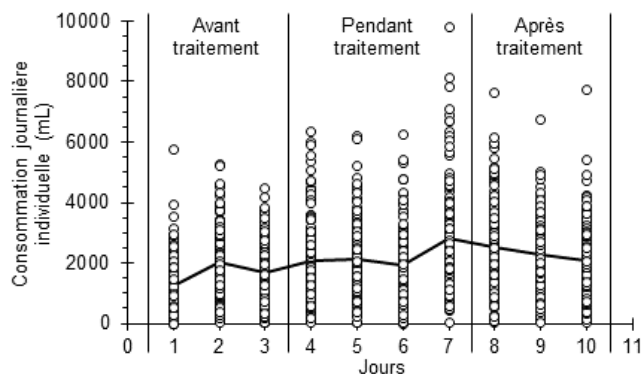


Figure 3 Consommation d'eau journalière individuelle avant, pendant et après traitement pour 200 agneaux recevant l'association sulfadiméthoxine/triméthoprime via l'eau de boisson pendant 4 jours en atelier d'engraissement

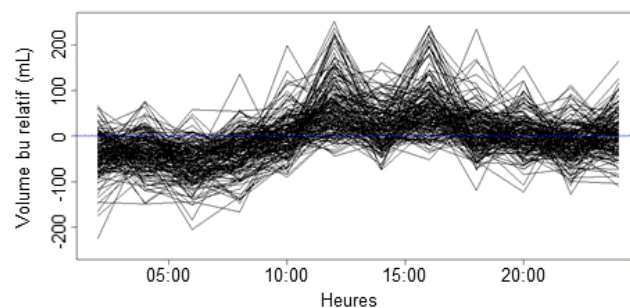


Figure 4 Cycles circadiens individuels de la consommation en eau des agneaux en atelier d'engraissement

Tableau 2 Pourcentage de la concentration théorique en SDM et en TMP retrouvé dans les abreuvoirs

Temps après mise en place du traitement	% concentration théorique dans les abreuvoirs	
	SDM	TMP
J1 – traitement J1 + 1h	2 ± 2 %	2 ± 1 %
J1 – traitement J1 + 4h	16 ± 14 %	6 ± 5 %
J1 – traitement J1 + 8h	51 ± 21 %	17 ± 8 %
J1 – traitement J1 + 12h	92 ± 8 %	6 ± 2 %
J2 – traitement J1 + 24h	27 ± 21 %	11 ± 4 %
J2 – traitement J2 + 1h	55 ± 25 %	15 ± 9 %
J2 – traitement J2 + 4h	84 ± 4 %	9 ± 3 %
J2 – traitement J2 + 8h	101 ± 3 %	7 ± 1 %
J2 – traitement J2 + 12h	77 ± 17 %	9 ± 3 %
J3 – traitement J2 + 24h	24 ± 16 %	13 ± 4 %
J3 – traitement J3 + 1h	125 ± 42 %	4 ± 3 %
J3 – traitement J3 + 4h	107 ± 32 %	5 ± 3 %
J3 – traitement J3 + 8h	119 ± 34 %	4 ± 2 %
J4 – traitement J3 + 24h	126 ± 12 %	3 ± 1 %
J4 – traitement J4 + 1h	79 ± 20 %	9 ± 6 %
J4 – traitement J4 + 8h	95 ± 1 %	5 ± 1 %
J4 – traitement J4 + 12h	67 ± 19 %	26 ± 16 %
J5 – traitement J4 + 24h	67 ± 0.2 %	20 ± 14 %
J6 – arrêt traitement + 24h	1 ± 0.5 %	3 ± 0.1 %
J7 – arrêt traitement + 48h	5 ± 0.4 %	20 ± 1 %
J8 – arrêt traitement + 72h	4 ± 0.4 %	17 ± 2 %

Les concentrations théoriques en sulfadiméthoxine et en triméthoprime retrouvées dans les abreuvoirs ont été calculées à partir de leurs concentrations dans la pompe doseuse et du débit de cette pompe. Les concentrations en sulfadiméthoxine et en triméthoprime dans la pompe ont été calculées pour que les agneaux reçoivent 37,4 mg/kg/24h de sulfadiméthoxine et 8,0 mg/kg/24h de triméthoprime en consommant un volume théorique de 2.5 L d'eau par jour. La concentration en sulfadiméthoxine dans les abreuvoirs augmentait au cours de la journée au 1^{er} et au 2^{ème} jours de traitement (Tableau 2). Au 3^{ème} et au 4^{ème} jours de traitement, elles étaient plus stables et proches de 100% de la concentration théorique. La sulfadiméthoxine était ensuite rapidement éliminée du système d'abreuvement après rinçage. La concentration en triméthoprime dans les abreuvoirs était très éloignée de la concentration théorique (au maximum 26 ± 16% à la fin du dernier jour de traitement) et le triméthoprime était relargué dans l'eau jusqu'à 3 jours après l'arrêt du traitement.

Les concentrations plasmatiques en triméthoprime étaient inférieures à la LOQ de 1 µg/mL pour tous les agneaux quel que soit le jour de prélèvement. Les concentrations plasmatiques en sulfadiméthoxine étaient comprises entre 0,52 et 68,90 µg/mL au 2^{ème} jour de traitement, entre 19,35 et 124,45 µg/mL au 3^{ème} jour de traitement et entre 21,94 et 156,15 µg/mL au 4^{ème} jour de traitement (Figure 5).

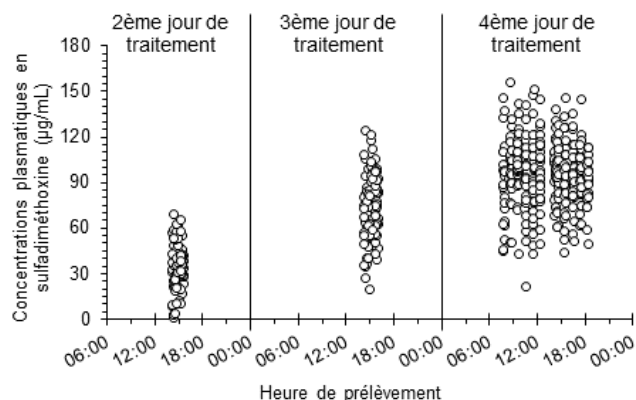


Figure 5 Concentrations plasmatiques en sulfadiméthoxine lors d'une administration de sulfadiméthoxine/triméthoprime pendant 4 jours via l'eau de boisson à 100 agneaux en atelier d'engraissement

3. DISCUSSION

Lors de la détermination des paramètres pharmacocinétiques de la sulfadiméthoxine et du triméthoprime en laboratoire, les concentrations plasmatiques en triméthoprime se sont avérées très faibles et les paramètres pharmacocinétiques du triméthoprime n'ont pas pu être estimés précisément. En atelier d'engraissement, la concentration en triméthoprime dans les abreuvoirs était également très faible et les concentrations plasmatiques étaient toujours inférieures à la limite de quantification du dosage. De plus, la difficile élimination du triméthoprime du circuit d'abreuvement pourrait conduire à l'exposition sur plusieurs jours d'un éventuel biofilm formé dans les canalisations à des concentrations en antibiotique inférieures aux Concentrations Minimales Inhibitrices des bactéries. Cela peut alors favoriser l'apparition de résistances. L'intérêt d'associer la sulfadiméthoxine au triméthoprime a donc été remis en question et l'utilisation de sulfadiméthoxine seule (Emercid[®] Sulfadiméthoxine) est préconisée. Les doses de sulfadiméthoxine administrées sont également à revoir avec l'administration d'une dose de charge au 1^{er} jour de traitement afin d'atteindre plus rapidement des concentrations plasmatiques maximales. La biodisponibilité de la molécule par voie orale étant complète pour des agneaux pré-ruminants comme ruminants, la dose n'aura cependant pas besoin d'être modifiée en fonction de l'âge des agneaux lors du traitement. Enfin, la consommation d'eau étant plus faible que celle attendue et très variable d'un agneau à l'autre et d'un jour à l'autre, le mode d'estimation de la consommation d'eau des agneaux doit être affiné avant la mise en place du traitement pour ne pas risquer de sous-exposer un grand nombre d'animaux.

CONCLUSION

Les résultats obtenus montrent donc la nécessité d'optimiser l'administration des antibiotiques via l'eau de boisson pour avoir une exposition adéquate des animaux. Pour compléter ces résultats il sera maintenant nécessaire de caractériser le comportement d'abreuvement d'animaux malades, la présente étude ayant été menée sur des animaux sains. En effet, il est facile d'imaginer par exemple qu'un agneau avec de l'arthrite aura un plus faible accès à l'eau ou qu'un animal avec de la fièvre aura tendance à boire plus souvent. Il sera alors possible de valider un modèle permettant de prédire les concentrations plasmatiques d'un antibiotique à partir des données de consommation d'eau des agneaux, et grâce à ce modèle de proposer des schémas posologiques pour n'importe quel antibiotique dans la mesure où ses paramètres pharmacocinétiques sont connus. Enfin, ce modèle pourra être étendu à d'autres systèmes de production tels que l'élevage bovin ou l'élevage porcin.

Les auteurs remercient les coopératives agricoles Arterris et Unicor à l'origine du projet Oviboost et fortement impliquées dans le recueil des données en atelier d'engraissement ovin. Ils remercient également la région Occitanie Pyrénées-Méditerranée et BPI France pour le financement de ce projet.

Soraci, A. L., Amanto, F., Tapia, M. O., de la Torre, E., Toutain, P. L. 2014 Res. Vet. Sci., 96(1), 153-159