

ETUDE DE DEPLETION TISSULAIRE DE L'AMOXICILLINE CHEZ LE POULET DE CHAIR APRES ADMINISTRATION D'UNE POUDRE ORALE SOLUBLE DANS L'EAU DE BOISSON (SURAMOX[®] 50)

Bousquet Eric¹, Wackowicz Guy¹, Richez Pascal², Monlouis Jean-Daniel², Sachot Eric³, Puyt Jean-Dominique³

¹ VIRBAC SA, B.P. 27, 06511 Carros Cedex

² DATAVET, B.P. 60, 34742 Vendargues Cedex

³ Ecole Nationale Vétérinaire, B.P. 40706, 44307 Nantes Cedex 3

Résumé

Une étude de déplétion tissulaire est effectuée chez le poulet de chair après administration d'une poudre orale soluble à base d'amoxicilline (Suramox[®] 50) dans l'eau de boisson à la dose de 20 mg/kg/j pendant 5 jours. Le traitement des données conduit à la détermination d'un temps d'attente de 7 jours applicable aux sujets susceptibles d'être traités par cette spécialité dans les conditions du terrain. Ce temps d'attente intègre les exigences réglementaires européennes en vigueur visant la protection du consommateur.

Summary

Amoxicillin tissular depletion in broilers following administration of an oral soluble powder in drinking water (Suramox[®] 50)

A tissular depletion is performed in broilers after administration of an amoxicillin oral soluble powder (Suramox[®] 50) in drinking water according to a daily dosage regimen of 20 mg/kg/d during 5 days. Statistical analysis of data allows to recommend a seven day withdrawal time applicable to animals likely to be treated in field conditions. This withdrawal period takes into account updated European legislation insuring human consumer safety.

Introduction

L'amoxicilline est couramment utilisée chez le poulet de chair en traitement dans l'eau de boisson. La dose de 20 mg/kg/j pendant 5 jours s'est avérée efficace selon un modèle d'infection expérimentale à *Escherichia coli* (Aerts et al, 1994). Les limites maximales de résidus (LMR) définitives de l'amoxicilline ont été fixées à 50 µg/kg dans les tissus consommables de toutes les espèces productrices d'aliments à l'exception des œufs (pas de LMR fixée) et du lait où la LMR est de 4 µg/kg (Annexe I du règlement LMR 2377/90/CEE n°508/99). Une étude de déplétion tissulaire a été menée afin de déterminer le temps d'attente chez le poulet de chair d'une spécialité à base d'amoxicilline selon le schéma posologique retenu et conformément à la réglementation européenne en vigueur. Cette étude originale prend en compte les nouvelles recommandations pour la détermination du temps d'attente basée sur un calcul statistique.

Matériels et Méthodes

Trente-deux poulets de souche Ross identifiés individuellement sont répartis en 4 groupes de 8 sujets logés dans des cages séparées. Le poids moyen des animaux est de 599 ± 10 g et les deux sexes sont également représentés.

La spécialité Suramox[®] 50 est une poudre orale soluble contenant 50% (m/m) d'amoxicilline. Elle est administrée dans l'eau de boisson en continu pendant 5 jours consécutifs à la dose de 20 mg d'amoxicilline/kg/j. L'eau supplémentée est renouvelée quotidiennement et la dose réelle est calculée en fonction du poids des sujets et de la consommation hydrique.

Les poulets sont sacrifiés par groupe de huit, respectivement 1, 2, 3 et 5 jours après l'arrêt du traitement. Sur chaque poulet, des échantillons des tissus suivants sont prélevés ; muscle, foie, rein et peau incluant la graisse sous-cutanée.

Tous les échantillons sont conservés congelés à -80°C en l'attente du dosage.

Les concentrations tissulaires en amoxicilline sont mesurées par chromatographie en phase liquide à haute performance après extraction puis dérivation et détection fluorimétrique. Pour chaque tissu, les critères de validation de la méthode analytique sont vérifiés : spécificité, linéarité, exactitude, fidélité, limites de quantification et de détection. La limite de quantification est la concentration minimale qui peut être mesurée avec une exactitude et une fidélité suffisantes. Elle est égale à $20\text{ }\mu\text{g/kg}$ dans tous les tissus, c'est-à-dire inférieure à la moitié de la LMR de l'amoxicilline.

Le calcul du temps d'attente de la spécialité étudiée selon le schéma posologique testé chez le poulet de chair est effectué conformément à la ligne directrice européenne EMEA/CVMP/036/95. Cette approche consiste à déterminer à partir des données de l'étude le temps nécessaire pour que 95% des poulets susceptibles d'être traités aient une concentration en amoxicilline inférieure à la LMR dans tous les tissus consommables. Ce temps d'attente est estimé avec un niveau de confiance de 95%. Le calcul est basé sur l'hypothèse d'une décroissance linéaire du logarithme de la concentration tissulaire en fonction du temps. Lorsque les données expérimentales ne permettent pas de vérifier les hypothèses nécessaires à ce calcul statistique, une approche alternative consiste à ajouter un délai supplémentaire au temps à partir duquel les concentrations en amoxicilline sont inférieures à la LMR dans tous les échantillons des sujets de l'étude. Les analyses statistiques sont effectuées à l'aide des logiciels Wt1 (Dr P. Hekman, Agency for the registration of veterinary medicinal products) et SYSTAT (Evanston, IL, USA)

Résultats

Etude expérimentale :

Dans le rein, les concentrations en amoxicilline de tous les échantillons sont inférieures à la LMR dès 24 heures après l'arrêt du traitement. Tous les échantillons de muscle et de foie passent sous ce seuil 2 jours après arrêt du traitement alors qu'il faut attendre 5 jours pour que les concentrations en amoxicilline de tous les échantillons de peau et de graisse soient inférieures à la LMR (TABLEAU 1).

Démarche statistique :

Les hypothèses sur la déplétion tissulaire au cours du temps étant vérifiées dans le muscle, le temps au bout duquel les muscles de 95% des poulets d'une population ont une concentration en amoxicilline inférieure à la LMR peut être calculé pour ce tissu avec un niveau de confiance de 95%. Il est de 6 jours.

Approche alternative :

Dans les autres tissus, les hypothèses portant sur la déplétion tissulaire ne peuvent être vérifiées. Un coefficient de sécurité de 30% proposé par la ligne directrice EMEA/CVMP/036/95 est ajouté au temps à partir duquel les échantillons de tous les tissus ont une concentration inférieure à la LMR, soit $5 \times 1,3 = 6,5\text{ j}$. Ce temps est arrondi à la valeur supérieure et le temps d'attente retenu pour la spécialité testée est de 7 jours après arrêt du traitement.

Discussion

La détermination du temps d'attente d'une spécialité nécessite:

- d'une part la définition des LMR qui établissent les concentrations maximales d'une substance dans les denrées d'origine animale sans danger pour le consommateur

- d'autre part la validation de méthodes analytiques qui permettent de mesurer de manière fiable les concentrations tissulaires en substance jusqu'à un seuil inférieur ou égal à la LMR

Ces étapes préalables étant franchies, la détermination du temps d'attente est menée au moyen d'une étude de résidus suivie d'une approche mathématique. La problématique consiste à estimer le temps d'attente à respecter à l'échelle de la population de sujets susceptibles d'être traités à partir des données de l'étude sur un nombre nécessairement limité d'animaux. Cette approche nécessite de réaliser une étude de déplétion tissulaire comprenant au moins trois temps d'abattage afin d'analyser la corrélation entre la concentration tissulaire et le temps après arrêt du traitement. Le critère défini par la réglementation européenne est le temps au bout duquel 95% de la population présente une concentration inférieure à la LMR avec un niveau de confiance de 95%. Ce temps peut être majoré par rapport au temps au bout duquel les concentrations sont inférieures à la LMR dans tous les échantillons de l'étude analysés. En effet l'approche statistique prend en compte les variations possibles d'une étude à l'autre et fixe un niveau de confiance de l'estimation du temps d'attente.

En revanche, la démarche qui consiste à déterminer le temps d'attente comme le délai nécessaire à l'obtention de concentrations inférieures à la LMR dans tous les échantillons de l'étude effectuée n'est pas pertinente. En effet cette approche ne permet aucune estimation du temps d'attente dans la population susceptible d'être traitée et *a fortiori* ne procure aucun niveau de confiance sur le temps d'attente estimé (Concordet et Toutain, 1997).

Par exemple dans l'étude présentée, les concentrations en amoxicilline sont inférieures à la LMR dans tous les échantillons de muscle dès deux jours après arrêt du traitement mais le délai estimé (avec un niveau de confiance de 95%) est de 6 jours pour que 95% des sujets susceptibles d'être traités aient une concentration inférieure à la LMR dans le muscle. Pour les autres tissus, l'approche alternative ajoute un coefficient de sécurité qui prend en compte la variabilité animale.

En définitive le temps d'attente de la spécialité testée chez le poulet de chair est fixé à 7 jours selon le schéma posologique validé. Cette valeur n'est pas directement extrapolable à une autre spécialité contenant le même principe actif compte tenu de l'influence possible de la formulation galénique sur la biodisponibilité.

TABEAU 1 : Concentrations tissulaires en amoxicilline chez le poulet de chair après administration de la spécialité SURAMOX®50 dans l'eau de boisson à la dose de 20 mg d'amoxicilline / kg / j pendant 5 jours

Jour	Concentrations en amoxicilline (µg/kg)			
	muscle	foie	rein	peau + graisse
1 Valeurs extrêmes	< 20 - 86	< 20 - 72	< 20 - 48	132 - 348
> LMR	3 / 8	3 / 8	0 / 8	8 / 8
2 Valeurs extrêmes	< 20 - 49	< 20 - 43	< 20 - 26	< 20 - 81
> LMR	0 / 8	0 / 8	0 / 8	4 / 8
3 Valeurs extrêmes	< 20 - 39	< 20 - 43	< 20 - 28	< 20 - 86
> LMR	0 / 8	0 / 8	0 / 8	4 / 8
5 Valeurs extrêmes	< 20 - 34	< 20 - 31	< 20	< 20 - 48
> LMR	0 / 8	0 / 8	0 / 8	0 / 8

Jour : à partir de l'arrêt du traitement

> LMR : nombre d'échantillons dont la concentration est supérieure à la LMR

Références

Aerts R., Verheijen F., Coert A., Van Der Bosch H., Aguer D., 1994. Proc. 6th EAVPT Congress, Edinburgh, 94-95.
Concordet D., Toutain P.L., 1997. J. Vet. Pharmacol. Therap., 20, 380-386.