



HAL
open science

Modélisation de l'effet bactéricide de la spiramycine. Choix d'un modèle pharmacodynamique

L Renard, P Sanders, M Laurentie

► **To cite this version:**

L Renard, P Sanders, M Laurentie. Modélisation de l'effet bactéricide de la spiramycine. Choix d'un modèle pharmacodynamique. *Veterinary Research*, 1993, 24 (1), pp.33-45. <hal-00902104>

HAL Id: hal-00902104

<https://hal.science/hal-00902104v1>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

Article de recherche

Modélisation de l'effet bactéricide de la spiramycine. Choix d'un modèle pharmacodynamique

L Renard *, P Sanders, M Laurentie

Centre national d'études vétérinaires et alimentaires, laboratoire des médicaments vétérinaires,
La-Haute-Marche, Javené, 35133 Fougères, France

(Reçu le 19 février 1992; accepté le 19 juin 1992)

Résumé — Les modélisations des courbes de croissance de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P *in vitro* à différents pH, des cinétiques de bactéricidie de la spiramycine vis-à-vis de ce germe, et de la relation dose-effet ont été réalisées. La courbe de croissance a été caractérisée par un modèle intégro-différentiel de Volterra-Kostitzin dont les principaux paramètres étaient un coefficient de croissance de $0,95 \pm 0,13 \text{ h}^{-1}$ et une phase de latence de $0,74 \pm 0,36 \text{ h}$. Le modèle de ZHI a permis, pour les cinétiques de bactéricidie, de mettre en évidence une vitesse de bactéricidie identique à partir d'un seuil de concentration caractéristique des antibiotiques «temps-dependants». Ce modèle différentiel laisse présager la possibilité d'une optimisation argumentée des posologies.

modélisation / pharmacodynamie / spiramycine

Summary — **Modelling of spiramycin killing curves: selection of a pharmacodynamic model.** The modelling of *in vitro* growth curves of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P at different pHs, of spiramycin killing curves and of the dose-effect relationship was performed. The growth curve was characterised by a Volterra-Kostitzin differential model, the main parameters of which were the bacterial growth rate constant of $0.95 \pm 0.13 \text{ h}^{-1}$ and a lag-time of $0.74 \pm 0.36 \text{ h}$. The Zhi model used for bactericidal kinetics showed the same bacterial killing rate constant from a minimum concentration characteristic of "time-dependent" antibiotics. This differential model incorporated with pharmacokinetic models could lead to a rationale for proper dosage regimens.

modelling / pharmacodynamics / spiramycin

* Correspondance et tirés à part

INTRODUCTION

Dans le domaine vétérinaire, une étude pharmacocinétique est généralement réalisée pour chaque antibiotique en vue d'une meilleure connaissance du devenir du médicament dans l'organisme. La pharmacocinétique couplée à l'étude des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et des concentrations maximales bactéricides (CMB) des germes sensibles à l'antibiotique permet d'argumenter la posologie choisie. Toutefois, ces deux paramètres, CMI et CMB, sont fortement critiqués (Ahlstedt, 1981; Caillon, 1990; Crugeon *et al*, 1990). En effet, ceux-ci ne rendent pas compte de la dynamique de l'effet antibactérien et seraient l'une des causes directes des échecs thérapeutiques auxquels les praticiens sont confrontés. En revanche, les cinétiques de bactéricidie répondent aux critères d'un paramètre pharmacodynamique (Petitjean *et al*, 1990). Cette approche pharmacodynamique est une méthode lourde et fastidieuse, utilisée en médecine vétérinaire (Ganière *et al*, 1991) et de plus en plus en médecine humaine (Garret, 1978; König *et al*, 1986; Peyret *et al*, 1990) devant l'augmentation du nombre de malades immunodéprimés nécessitant un traitement bactéricide et devant une volonté du thérapeute de prédire l'efficacité du traitement antibiotique (Caillon, 1990). Cette technique pourrait également permettre d'aborder de façon plus rationnelle la détermination des posologies en médecine vétérinaire. À la différence de la médecine humaine, la thérapeutique vétérinaire pose le problème du taux de résidus des animaux de rente pour la protection des consommateurs.

Le but de ce travail est d'étudier la pharmacodynamie de la spiramycine basée sur un *Staphylococcus aureus* afin de modéliser les cinétiques de bactéricidie et la relation entre la concentration de la spiramycine et ses effets antibactériens.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Milieux

Trois milieux ont été utilisés : le bouillon tryptique soja (BTS) (DIFCO, France), le bouillon Mueller Hinton (MH Diagnostics Pasteur, France) ajustés de façon stérile au pH voulu avec de la soude 1N, et la gélose trypticase soja (GTS, DIFCO, France) pour le dénombrement des bactéries survivantes.

Souche bactérienne et inoculum

Staphylococcus aureus ATCC 6538P a été conservé en phase exponentielle (6 h d'incubation à 37 °C) à -80 °C dans un bouillon de culture pour la conservation de souches (BCCS : 3 g extraits de viande de bœuf, Institut Pasteur Production; 5 g peptone trypsique de caséine, Biomérieux, eau distillée qsq 1 000 ml) à une densité optique de 0,5 dans des cryotubes (Nunc, Danemark) de 1,8 ml. Un inoculum de 10^6 - 10^7 bactéries/ml a été préparé de la façon suivante : un tube de 1 ml de *Staphylococcus aureus* 6538P a été décongelé et dilué 6 fois au dixième dans du bouillon de culture. Un isolement a été alors réalisé sur boîte ronde contenant une gélose trypticase soja (GTS). Après 18 h d'incubation à 37 °C, 3 colonies ont été prélevées, mises en suspension et émulsionnées dans 2 ml de tampon phosphate 0,1 M à pH $7,9 \pm 0,1$. Une dilution au dixième a été réalisée en bouillon. Le tampon et le bouillon ont été préalablement réchauffés à 37 °C, afin d'éviter tout choc thermique.

Antibiotique

Le titre de la spiramycine base (Rhône Mérieux, France) est de 4558 UI/mg. La préparation de la gamme a été effectuée comme suit : 240 000 UI (\approx 52,65 mg) de spiramycine ont été dissous dans 5 ml de méthanol (Merck, Allemagne) puis dilués dans 95 ml d'eau distillée stérile. Des dilutions au 1/2 dans de l'eau distillée stérile ont été réalisées de façon à obtenir une gamme de 1 200 à 37,5 UI/ml.

Concentration minimale inhibitrice (CMI)

La détermination de la CMI de la spiramycine a été effectuée selon les normes standard américaines (Nationale Committee for Clinical Laboratory Standards, 1985).

Première concentration bactéricide (PCB)

La PCB est la première concentration bactéricide montrant un nombre inférieur de survivants par rapport à l'inoculum de départ (Caillon *et al*, 1989). Celle-ci est estimée graphiquement à partir d'une représentation semi-logarithmique de la relation effet-concentration.

Cinétiques de bactéricidie

La solution bactérienne (1,8 ml) a été distribuée dans 7 tubes de verre stériles. À l'instant $t = 0$, 0,2 ml d'une solution 10 fois concentrée de l'antibiotique a été ajoutée de façon à obtenir la gamme de concentrations finales suivante : 0 (témoin : eau distillée), 3,75; 7,5; 15; 30; 60 et 120 UI/ml. 50 μ l ont été prélevés aux temps t de prélèvements suivants : 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 24, 26, 28, 30 et 48 h. Une dilution sériée de raison 4 de ces prélèvements a été réalisée en microplaque 96 cupules (contenant 150 μ l de bouillon).

Le mélange a été assuré par la technique «d'aspiration et refoulement». Quatre repiquages de 20 μ l de chacune des dilutions ont été effectués à l'aide d'une pipette à 12 canaux sur une gélose trypticase soja contenant des inhibiteurs de l'antibiotique : 10 g/l de charbon actif (Merck, Allemagne) et 10 g/l de sulfate de magnésium (Prolabo, France) ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$). L'existence d'un transport d'antibiotique (carry-over) a été observée sur la gélose de dénombrement au temps 0.

Après 24 h d'incubation, on lit la première dilution montrant un nombre de colonies par site compris entre 3 et 40 colonies. Le nombre de colonies a été multiplié par le coefficient de dilution. Les résultats (moyenne des 4 repiquages) ont été exprimés en unités formant une colonie

par millilitre (UFC/ml). La limite de détection est de 50 UFC/ml ($1,7 \log_{10}$).

Les cinétiques ont été réalisées dans du BTS à pH 7,18, 7,6 et 8 et dans du bouillon MH à pH 8. Le pH a été contrôlé après stérilisation.

Analyse mathématique

Les analyses pharmacodynamiques ont été effectuées à l'aide d'un ensemble de programmes écrits en Basic Quick-basic, (Microsoft, États-Unis) sur un micro-ordinateur compatible PC.

Modèles

Les modèles mathématiques sigmoïde plus une base pour les courbes de croissance bactérienne (1) et sigmoïde moins une base pour les cinétiques de bactéricidie (2) définis par les équations qui suivent, ont été testés :

$$E = E_0 + [E_{\max} \times t^N / (E_{150}^N + t^N)] \quad (1)$$

$$E = E_0 - [E_{\max} \times t^N / (I_{150}^N + t^N)] \quad (2)$$

où E est la population bactérienne à l'instant t , E_0 la population initiale, E_{150} le temps pour obtenir 50% de la croissance maximale, I_{150} le temps pour obtenir 50% de l'inhibition maximale, E_{\max} la quantité de bactéries maximale atteinte et N le coefficient de sigmoïdité.

La relation entre la concentration en antibiotique et l'effet obtenu (exprimé en pourcentage de survivants après 48 h) est ajustée avec un modèle sigmoïde moins une base défini par l'équation suivante :

$$E = E_0 - [E_{\max} \times C^N / (IC_{50}^N + C^N)] \quad (3)$$

où C est la concentration en antibiotique (UI/ml) entraînant un effet E après un temps déterminé d'incubation exprimé en pourcentage de bactéries survivantes, E_0 l'effet produit en absence d'antibiotique, E_{\max} l'effet maximal, IC_{50} la concentration nécessaire pour obtenir 50% de l'inhibition maximale et N le coefficient de sigmoïdité.

Les paramètres ont été estimés par régression non linéaire à l'aide du programme proposé par Yamaoka *et al* (1985). Les données ont été

pondérées par l'inverse du carré des valeurs observées.

Le modèle intégral-différentiel de Volterra Kostitzin (Lebreton, 1982) auquel nous avons ajouté un test pour évaluer la présence d'un temps de latence (Tlag) décrit l'évolution de la population bactérienne au cours du temps. Il est défini par l'équation suivante :

$$\begin{aligned} \text{si } t < T_{\text{lag}} \text{ alors } dB/dt &= 0 \\ \text{si } t > T_{\text{lag}} \quad dB/dt &= B (Kc - Ka \cdot B - Ks \cdot S) \quad (4) \end{aligned}$$

où B (UFC•ml⁻¹) est la population bactérienne à l'instant t, Kc (h⁻¹) le coefficient de croissance de la bactérie, -Ka•B un terme de freinage logistique où Ka est une constante positive limitative (ml•h⁻¹•UFC⁻¹), -Ks•S un terme de freinage cumulatif qui modélise l'accumulation de substances toxiques ou l'épuisement du milieu où Ks est un coefficient de saturation (ml•h⁻²•UFC⁻¹), et S représente la surface sous la courbe (UFC•h•ml⁻¹).

Les cinétiques de bactéricidie sont ajustées avec le modèle de Zhi (Zhi et al, 1988). L'équation différentielle définissant la croissance bactérienne est la suivante :

$$dB/dt = Kc \cdot B + \frac{Kb \cdot C}{K_{bm} + C} \cdot B \quad (5)$$

où C est la concentration en antibiotique, B la population bactérienne à l'instant t, Kc la constante de croissance des bactéries dans la phase exponentielle, Kb la constante de bactéricidie (h⁻¹) et K_{bm} une constante de type Michaëlis Menten (U•ml⁻¹).

Ce modèle est incorporé à un modèle à 2 compartiments : un compartiment d'effet (Ce) qui correspond *in vitro* au milieu de culture contenant l'antibiotique et un compartiment récepteur (Cr) qui correspond aux milieux internes des bactéries. Le modèle de Zhi est relié à cette concentration Cr selon la loi d'action de masse. Le passage de l'antibiotique d'un compartiment à l'autre est modélisé par des constantes de vitesse K₁₂ et K₂₁ (h⁻¹) (fig 1).

La simulation des équations différentielles est effectuée par la méthode de Runge-Kutta Gill (Yamaoka et Nakagawa, 1983). Le modèle est ajusté par régression non linéaire selon la méthode des moindres carrés pondérés avec une procédure itérative. Le facteur de pondéra-

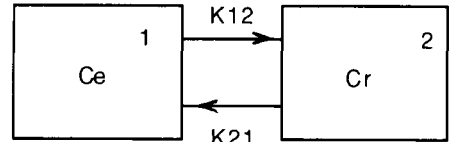


Fig 1. Modélisation de l'effet bactéricide de la spiramycine.

tion choisi est l'inverse du carré du nombre d'UFC/ml observé.

Le choix des modèles a été effectué à l'aide du critère d'information d'Akaike (AIC) (Yamaoka et al, 1978).

RÉSULTATS

Courbes de croissance témoins

La CMI de la spiramycine vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P a été de 15 UI/ml (≈ 3,3 mg/l).

Les figures 2,a,b,c représentent l'évolution du nombre de bactéries survivantes au cours du temps. Les courbes témoins suivent le profil d'un germe mésophile avec une phase de latence pouvant atteindre 1 h, une phase de croissance exponentielle de 6-7 h, une phase maximale stationnaire d'environ 24 h et une légère phase de déclin lorsque la population est importante. La courbe a été ajustée avec un modèle mathématique sigmoïde plus une base. Pour une population de 10⁶-10⁷ bactéries, le coefficient de sigmoïdité est en moyenne de 3,92 ± 0,99 et le temps moyen nécessaire pour obtenir 50% de la population maximale est de 6,88 ± 1,95 h.

L'ajustement avec le modèle intégral-différentiel de Volterra Kostitzin a permis d'obtenir les paramètres suivants : un Kc moyen de 0,95 ± 0,13 h⁻¹ avec un Ka

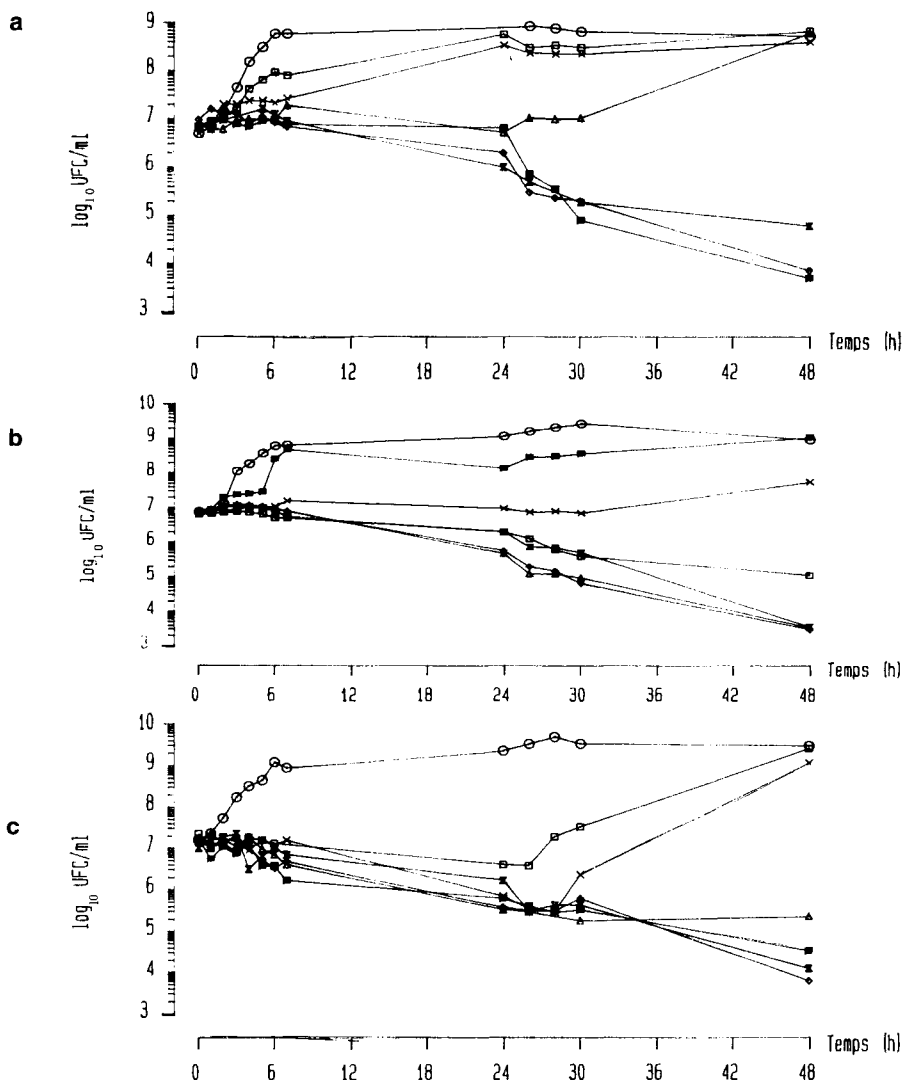


Fig 2. Cinétiques de bactéricidie de la spiramycine face à *S aureus* ATCC 6538P en milieu BTS à pH 7,2 (a), pH 7,6 (b) et pH 8 (c). a et c : O témoin; □ 3,75 UI/ml; x 7,5 UI/ml; Δ 15 UI/ml; 30 UI/ml; ■ 60 UI/ml; ◇ 120 UI/ml. b : O témoin; ■ 3,75 UI/ml; x 7,5 UI/ml; ◇ 15 UI/ml; Δ 30 UI/ml; 60 UI/ml; □ 120 UI/ml.

de $8,8 \cdot 10^{-10} \pm 6,14 \cdot 10^{-10} \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{UFC}^{-1}$ et un temps de latence de $0,74 \pm 0,36 \text{ h}$. Le terme $-K_s \cdot S$ (4) est ici négligeable devant les autres termes avec un K_s inférieur à 10^{-12} . La figure 3 montre l'évo-

lution de la population bactérienne en fonction du temps modélisée par un modèle sigmoïde et par un modèle de Volterra Kostitzin. Le tableau I rassemble les valeurs des différents para-

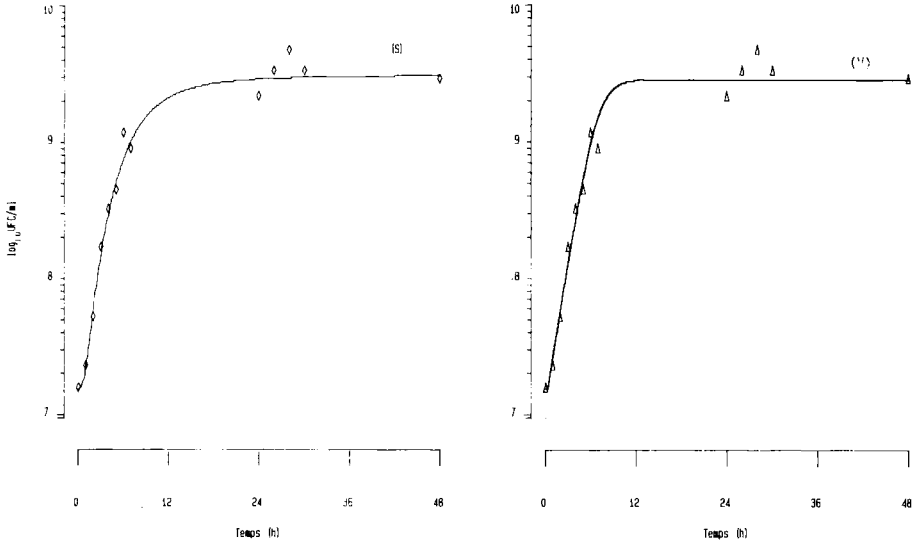


Fig 3. Courbes de croissance de *S aureus* ATCC 6538P suivant un modèle sigmoïde (S) et un modèle de Volterra-Kostitzin (V).

mètres de la courbe de croissance de *S aureus* 6538P aux différents pH et analysés suivant les deux modèles mathématiques.

Cinétiques de bactéricidie

La figure 2a représente les cinétiques de bactéricidie réalisées à pH 7,2. Pour des

Tableau I. Comparaison des paramètres pharmacodynamiques décrivant l'évolution de la croissance de *S aureus* à 3 pH différents en milieu BTS. Les paramètres pharmacodynamiques ont été obtenus après ajustement des courbes par un modèle sigmoïde ou par le modèle de Volterra Kostitzin.

pH	Modèle sigmoïde				Modèle de Volterra Kostitzin		
	E_p $\times 10^6$ (UFC•ml ⁻¹)	E_{max} $\times 10^9$ (UFC•ml ⁻¹)	E_{t50} (h)	N	Kc (h ⁻¹)	Ka $\times 10^{-10}$ (ml•h ⁻¹ •UFC ⁻¹)	Tlag (h)
7,2	5,1	0,71	5,3	4,69	1,06	15,3	0,89
7,6	7,2	1,26	6,28	4,27	0,99	8,0	1
8	15,6	3,06	9,06	2,8	0,8	3,1	0,33

E_0 : Population initiale bactérienne; E_{max} : effet maximal; E_{t50} : temps pour obtenir 50% de E_{max} ; N : coefficient de sigmoïdité; Kc : coefficient de croissance; Ka : constante de freinage; Tlag : temps de latence.

concentrations inférieures à 15 UI/ml, on note seulement une légère diminution de la vitesse de croissance en phase exponentielle. À partir de cette concentration, la spiramycine a un pouvoir bactériostatique durant les 7 premières heures. Une re-croissance bactérienne est à noter, bien que tardive (au-delà de 30 h) pour une concentration de 15 UI/ml. L'effet bactéricide est assez faible, à savoir 14,85%, 10,73% et 21,28% de survivants pour des concentrations de 30, 60 et 120 UI/ml après 24 h d'incubation, pour atteindre respectivement 0,92, 0,07 et 0,08% de survivants après 48 h.

Effet du pH

Une augmentation de pH modifie nettement la cinétique de bactéricidie de la spiramycine. L'effet bactériostatique est apparu à 7,5 UI/ml pour un pH de 7,6 (fig 2b) et dès 3,75 UI/ml pour un pH de 8 (fig 2c) et est maintenu pendant 30 h. Au-delà de ce temps, une recroissance bactérienne est observée.

Pour un pH de 7,6, et des concentrations de 15 à 120 UI/ml le pourcentage de survivants à la 24^e h varie de 5,94 à 31,25%. L'effet bactéricide obtenu en 48 h a légèrement diminué lorsque la concentration a été augmentée (0,04% à 15 UI/ml et 1,72 à 120 UI/ml).

Influence du milieu

À pH 8, les 2 études réalisées en bouillon TS (BTS) et bouillon MH (BMH) (milieu de référence) ont abouti à des résultats comparables. L'effet bactéricide se traduit par une diminution de la population bactérienne de 1 à 2 log₁₀ en 24 h et de 2 à 3,5 log₁₀ en 48 h à partir de 15 UI/ml (exemple : 0,11% de survivants à 30 UI/ml

en BTS et 0,12% en BMH, 0,19% à 60 UI/ml en BTS et 0,17% en BMH).

Modélisation (exemple à pH 7,6)

Le modèle proposé par Zhi a été choisi pour ajuster les cinétiques de bactéricidie en fonction des concentrations en antibiotique (fig 4). La constante de bactéricidie varie de 0,8 à 1,06 h⁻¹. Les données des différents paramètres sont données dans le tableau II.

La figure 5 montrent la simulation des concentrations dans le compartiment d'effet et dans le compartiment récepteur (la bactérie), ainsi que l'évolution du nombre d'UFC/ml au cours du temps.

Relation dose-effet

La figure 6 représente la relation concentration-effet à un temp donné. La PCB estimée graphiquement est de 12 UI/ml à pH 8, 10 UI/ml à pH 7,6 et de 23 UI/ml à pH 7,2.

La valeur moyenne obtenue pour le coefficient de sigmoïdité est de 19,92 ± 7,8 et de 10,58 ± 5,26 UI/ml pour l'IC₅₀%. Les valeurs aux différents pH du milieu de culture des deux paramètres sont données dans le tableau III.

DISCUSSION

La CMI de *S aureus* ATCC 6538P obtenue vis-à-vis de la spiramycine correspond aux CMI des staphylocoques sensibles à l'antibiotique décrites dans la littérature (Chabbert, 1985; Rolin et Bouanchaud, 1989). Cette souche ne constitue donc pas un cas particulier. La courbe de croissance témoin permet de vérifier le bon état de souche étudiée.

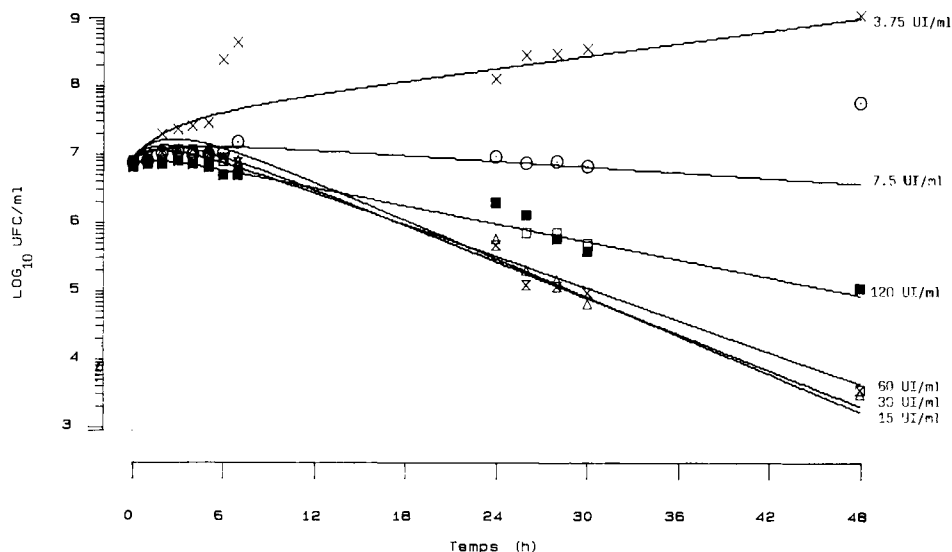


Fig 4. Modélisation des cinétiques de bactéricidie de la spiramycine face à *S aureus* ATCC 6538P à pH 7,6.

Deux types de modèles ont donc été testés pour ajuster ces courbes témoins. L'hyperbole, ou sigmoïde en représentation semi-logarithmique, est un modèle – descriptif – qui permet de modéliser de

nombreuses relations entre le principe actif et l'effet produit par celui-ci et permet, par ailleurs, de modéliser des processus saturables. Mais étant moins puissant pour la compréhension du phénomène qu'un mo-

Tableau II. Paramètres pharmacodynamiques des cinétiques de bactéricidie de *S aureus* 6538P en présence des spiramycine en BTS à pH 7,6.

Paramètres	Concentration (UI.ml ⁻¹)					
	3,75	7,5	15	30	60	120
K ₁₂ (h ⁻¹)	0,19	0,19	0,16	0,16	0,08	0,09
K ₂₁ (h ⁻¹)	0,02	0,01	0,16	0,11	0,22	0,38
Bo (UFC x 10 ⁶ .ml ⁻¹)	9,6	7,5	8,1	8,1	8,0	6,4
Kc (h ⁻¹)	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84
Kb (h ⁻¹)	0,97	0,94	0,52	1,28	1,19	1,05
Kbm (UI.ml ⁻¹)	0,88	0,53	2,84	4,05	2,65	2,49

K₁₂, K₂₁ : constantes d'échanges; Bo : population initiale bactérienne; Kc : coefficient de croissance; Kb : constante de bactéricidie; Kbm : constante de Michaelis-Menten.

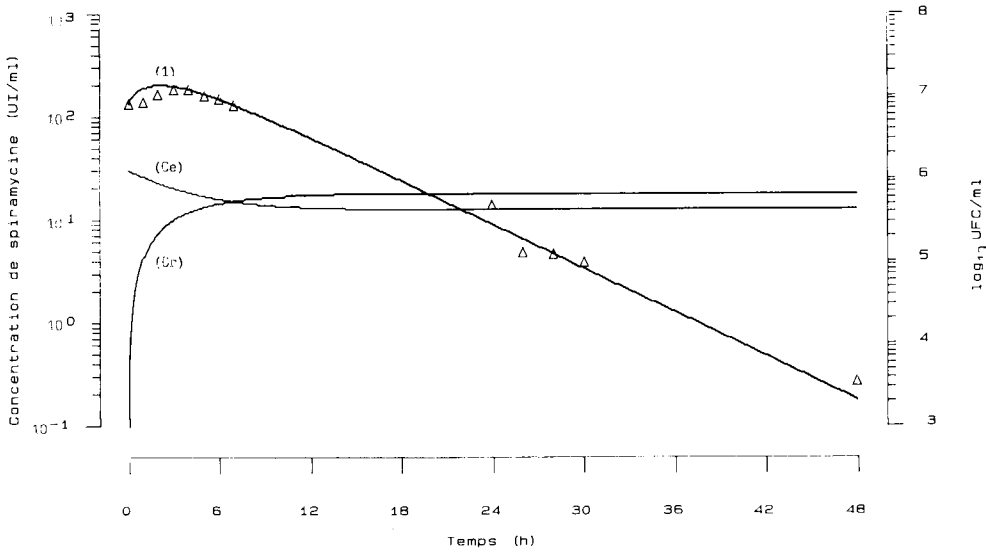


Fig 5. Modèle de Zhi appliqué à la cinétique de bactéricidie de la spiramycine à 15 UI/ml vis-à-vis de *S aureus* ATCC 6538P à pH 7,6 (1) intégré à un modèle à deux compartiments : un compartiment d'effet (Ce) et un compartiment récepteur (Cr).

dèle – explicatif –, notre choix s'est orienté vers un modèle avec un critère d'information d'Akaike (AIC) voisin. Le modèle expo-

nentiel étant irréaliste sur une longue période, une fonction de freinage doit être envisagée. Le modèle intégró-différentiel de

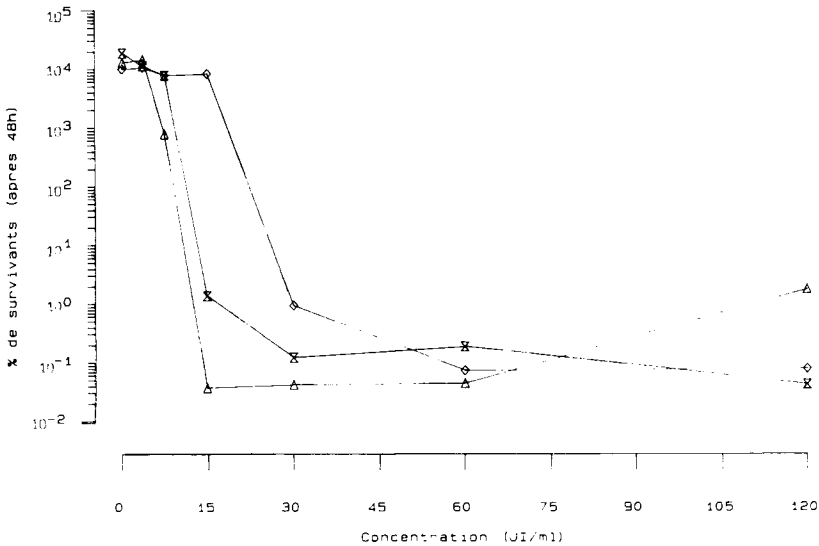


Fig 6. Relation Concentration-effet après 48 h d'incubation. \diamond pH 7,2; Δ pH 7,6; \boxtimes pH 8.

Tableau III. Paramètres pharmacodynamiques des courbes effet-dose à différents pH.

Paramètres	pH du milieu de culture		
	7,2	7,6	8
E_0	9 482	13 670,68	9 482,78
E_{max}	9 481,92	13 670,64	9 482,71
IC_{50} (Ul.ml ⁻¹)	16,58	6,8	8,35
N	15,72	28,92	15,13

E_0 : pourcentage de survivants obtenu après 48 h d'incubation par rapport à la population initiale; E_{max} , effet maximal exprimé en pourcentage de bactéries survivantes. IC_{50} : concentration nécessaire pour obtenir 50% de l'effet inhibiteur maximal; N : coefficient de sigmoïdité.

Volterra Kostitzin, qui est une sophistication du modèle exponentiel et du modèle logistique auquel nous avons adjoint un éventuel temps de latence, a été retenu. Ce modèle est utilisé en dynamique de populations (exemple : population de paramécies) (Chassé *et al*, 1977). Il pourrait permettre un classement comparatif des germes pathogènes par leur capacité de se développer, quantifiée par le coefficient de croissance (Kc) et leur capacité à s'adapter au milieu mesurée par le terme de freinage (Ka). La valeur relativement faible du Ka témoigne ici de conditions de culture bien adaptées au développement du germe (milieu, température...). Le terme de freinage cumulatif ($-Ks \cdot S$) permet de modéliser les phénomènes d'accumulation *in vitro*. L'arrêt des divisions bactériennes par épuisement du milieu provoque cette phase de déclin.

Le choix du modèle de Volterra pour les courbes témoins est en accord avec l'hypothèse d'une croissance exponentielle nécessaire à l'utilisation du modèle de Zhi pour la simulation des cinétiques de bactéricidie.

La diminution de la population bactérienne observée dans notre étude de bactéricidie est du même ordre, de grandeur que celles trouvées dans la littérature (Chabbert, 1955; Pinnert-Sindigo et Pelleurat, 1956; Sutherland, 1962), à savoir une diminution de 1 à 2 \log_{10} en 24 h et 2 à 3 \log_{10} en 48 h. Les cinétiques de bactéricidie de la spiramycine base sur *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P présentent 2 phases.

Dans la phase précoce, l'antibiotique à partir d'une concentration de 3,75, 7,5 et 15 Ul/ml pour des pH respectifs du milieu de 8, 7,6 et 7,2 est bactériostatique pendant les 7 premières heures. On note durant cette phase un léger début de croissance (Kc de 0,84 h⁻¹ proche de celui déterminé dans la courbe témoin). La concentration minimale ayant un effet bactériostatique diminue lorsque le pH augmente ce qui a été noté par Chabbert (1955). La 2^e phase dite tardive permet de montrer que les vitesses de bactéricidie sont peu influencées par l'augmentation des concentrations. Cela est caractéristique des antibiotiques dits «temps-dépendants», ce que sont les macrolides vis-à-vis des germes Gram+ (Petitjean *et al*, 1990).

L'action temps-dépendante de la spiramycine vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* est corroborée par l'obtention d'un fort indice de sigmoïdité dans la relation dose-effet (Koritz et Bevell, 1991).

Le modèle de Zhi intègre un modèle bi-compartimental de distribution de l'antibiotique. C'est un modèle explicatif permettant d'ajuster les courbes *in vitro* et incorporable aux modèles pharmacocinétiques. Mais ce modèle ne permet pas de modéliser les recroissances bactériennes, sauf en prenant en compte une dégradation de la spiramycine.

La diminution de l'effet bactéricide aux fortes concentrations notée à pH 7,6 où

effet «Eagle», caractéristique des β -lactamines, a aussi été noté pour l'érythromycine et la spiramycine sur *Staphylococcus aureus* 209P (Chabbert, 1955). Cet effet faible à pH 7,2 n'est pas retrouvé à pH 8. Les constantes d'échange estimées par régression reflètent l'effet Eagle. En effet, le K_{12} diminue de moitié pour les fortes concentrations (60 et 120 UI/ml) et a *contrario* le K_{21} augmente. La possibilité d'un encombrement stéréochimique des sites de fixation, à savoir la sous-unité 50 S des ribosomes de la bactérie (Michel-Briand, 1986), et un phénomène de saturation, peuvent être envisagés, compte tenu du mécanisme d'action de la spiramycine.

La courbe dose-effet apporte deux autres informations : l' IC_{50} et la PCB. Il est à noter que la concentration nécessaire pour obtenir 50% de l'effet inhibiteur maximal ($IC_{50} = 16,58$ UI/ml) après 48 h d'incubation est voisin de la CMI (15 UI/ml). La PCB permet de définir le temps maximal efficace (TME) pendant lequel la concentration (plasmatique, tissulaire...) de l'antibiotique est supérieure à la PCB. La TME correspond à la durée d'efficacité de l'antibiotique.

Lorsque la concentration inhibitrice est atteinte, on peut noter une recroissance bactérienne tardive dans les trois expériences de cinétiques de bactéricidie. Les mêmes expériences renouvelées ont montré que le phénomène était reproductible : recroissance aux mêmes temps pour les mêmes concentrations aux mêmes pH. Cette recroissance serait liée à l'hétérogénéité de la population bactérienne initiale (Drugeon *et al*, 1987) et à l'existence d'un petit nombre de bactéries plus résistantes (Gialdrone Grassi *et al*, 1980). La phase de recroissance est dépendante de la concentration d'antibiotique utilisée comme l'observent Caillon *et al* (1985).

Tenant compte des différents paramètres pharmacodynamiques (action temps ou concentration dépendante, re-

croissance bactérienne, effet postantibiotique) et de la modélisation des cinétiques de bactéricidie avec des modèles explicatifs décrivant la distribution de l'antibiotique dans la bactérie devraient permettre une meilleure compréhension de l'effet obtenu *in vivo*. Pour la spiramycine, on constate une activité supérieure *in vivo* par rapport à celle prévue *in vitro* (Chabbert *et al*, 1957). Cela s'explique notamment par des concentrations élevées dans les tissus par rapport au plasma, l'existence d'un effet postantibiotique et les défenses immunitaires de l'animal infecté.

L'optimisation des posologies par une approche pharmacocinétique/pharmacodynamique (PC/PD) est de plus en plus employée en antibiothérapie humaine (Garraffo *et al*, 1988, 1990; Vogelmann *et al*, 1988). Nos travaux ne sont qu'une étape préliminaire vers la modélisation, et la validation *in vivo*, de la relation PC/PD dont Sheiner *et al* (1979) est l'un des premiers à présenter une application avec d-tubocurarine. Cette approche permettrait sans doute d'apporter des éléments de réponses à l'échec thérapeutique (Galleazzi, 1986; Colburn, 1987; Girard *et al*, 1990) et de définir un outil d'optimisation des posologies nécessaire en médecine vétérinaire face à la diversité des espèces et de leurs pathologies.

Les modèles différentiels sont peu utilisés pour ce type d'études du fait-même de leur complexité et de leur coût en temps machine. Le modèle de croissance de Volterra et le modèle de Zhi pour les cinétiques de bactéricidie intégrable aux modèles pharmacocinétiques semblent répondre à notre attente pour expliquer l'action des antibiotiques et prédire leurs effets.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Pr Drugeon HB, Caillon J, Legallou F et Pirault JL pour leur collaboration.

RÉFÉRENCES

- Ahlstedt S (1981) The antibacterial effects of low concentrations of antibiotics and host defence factors: a review. *J Antimicrob Chemother* 8, suppl C, 59-70
- Caillon J (1990) L'activité bactéricide des antibiotiques. Développement de nouvelles méthodes automatiques et leurs applications dans l'étude des antibiotiques seuls et associés. Thèse Univ Paris-sud
- Caillon J, Juvin ME, Pirault JL, Moinard D, Drugeon HB (1985) Activité bactéricide de la piperacilline comparée à la mezlocilline et au céfotaxime. Réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse, Abstr n° 82
- Caillon J, Juvin ME, Pirault JL, Drugeon HB (1989) Activité bactéricide de la daptomycine comparée à celle de la vancomycine et de la teicoplanine sur les bactéries à Gram positif. *Pathol Biol* 37, 540-548
- Chabbert YA (1955) Étude *in vitro* sur la spiramycine. *Ann Inst Pasteur (Paris)* 89, 432-446
- Chabbert Y, Boyer F, Saviard M, Boulingre H, Hervé J (1957) Détermination de l'action bactéricide *in vivo* des antibiotiques dans la staphylococcie rénale de la souris. *Ann Inst Pasteur (Paris)* 92, 760-777
- Chassé JL, Legay JM, Pavé A (1977) Le modèle de Volterra-Kostitzin en dynamique des populations : ajustement et interprétation des paramètres. *Ann Zool Ecol Anim* 9, 425-441
- Colburn WA (1987) Pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling: what it is! *J Pharmacokin Biopharm* 15, 545-555
- Drugeon HB, Caillon J, Juvin ME, Pirault JL (1987) Dynamics of ceftazidime-pefloxacin interaction shown by a new killing curve-check board method. *J Antimicrob Chemother* 19, 197-203
- Drugeon H, Legallou F, Caillon J (1990) Méthodes d'études de l'activité bactéricide. In: *Bactéricidie* (Courvalin P, Drugeon H, Flandrois JP, Goldstein F, eds). Maloine, Paris, 113-126
- Galleazzi RL (1986) Simultaneous modeling of modeling of pharmacodynamics and pharmacokinetics. *J Pharmacol* 17, 63-70
- Ganière JP, André-Fontaine G, Meissonnier E, Larrat M (1991) Cinétique de l'activité bactéricide *in vitro* d'une association utilisée dans le traitement des mammites bovines. *Recl Méd Vét* 167, 5, 445-449
- Garraffo R, Drugeon HB, Lapulus P, Dellamonica P, Jacomet Y, Bernard E (1988) Optimisation pharmacodynamique et pharmacocinétique de la posologie des aminoglycosides. In: *Intérêt et limite de la pharmacocinétique en recherche et développement* (Bres J, Panis G, eds). Sauramps médical, Vigot, 311-319
- Garraffo R, Dellamonica P, Drugeon HB, Etesse H, Lapulus P (1990) A new approach to optimal antibiotic dosage regimen by coupling pharmacokinetics and killing curve parameters. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 5, 325-332
- Garret ER (1978) Kinetics of antimicrobial action. *Scand J Infect Dis* suppl 14, 54-85
- Gialdroni Grassi G, Ferrara A, Navone A, Sala P (1980) Effect of subinhibitory concentrations of antibiotics on the emergence of drug resistant bacteria *in vivo*. *J Antimicrob Chemother* 6, 217-233
- Girard P, Nony P, Boissel JP (1990) The place of simultaneous pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling in new drug development: trends and perspectives. *Fundam Clin Pharmacol* 4, 103-115
- König P, Guggenbichler JP, Semenitz E, Foissner W (1986) Kill kinetics of bacteria under fluctuating concentrations of various antibiotics. *Chemotherapy* 32, 37-43
- Koritz GD, Bevell RF (1991) Role of pharmacokinetics in the outcome of treatment of infections. Proceeding of the European Association for Veterinary Pharmacology And Toxicology. *Acta Vet Scand* 87, 18-27
- Lebreton JD, Miller C (1982) Modèles dynamiques déterministes en biologie. Masson, Paris, 54-56
- Michel-Briand Y (1986) Mécanismes moléculaires de l'action des antibiotiques. Macroïdes. Masson, Paris, 205-209
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (1985) *Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; approved standard*. NCCLS publication M7-A. Villanova, Pa
- Petitjean O, Tod M, Nicolas P (1990) Conséquences de la bactéricidie sur les schémas thérapeutiques. In: *Bactéricidie* (Courvalin P, Drugeon H, Flandrois JP, Goldstein F, eds). Maloine, Paris, 274-312

- Peyret M, Carret G, Carre C, Fardel G, Flandrois JP (1990) Étude mathématique de la courbe de mortalité d'*E coli* exposé aux polymyxines. *Pathol Biol* 38, 441-445
- Pinnert-Sindoco S, Pellerat J (1956) La spiramycine : étude de son activité *in vitro*. *Thérapie* 11, 308-323
- Rolin O, Bouanchaud DH (1989) Comparaison de l'effet postantibiotique *in vitro* de macrolides en C14 et en C16 vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. *Pathol Biol* 37, 5, 375-377
- Sheiner LB, Stanki DR, Vozeh S, Miller RD, Ham J (1979) Simultaneous modeling of pharmacokinetics and pharmacodynamics: application to d-tubocurarine. *Clin Pharmacol Ther* 25, 358-371
- Sutherland R (1962) Spiramycin: a reappraisal of its antibacterial activity. *Br J Pharmacol* 19, 99-110
- Vogelman BS, Gudmundsson S, Leggett J, Turnidge J, Ebert S, Craig WA (1988) Correlation of antimicrobial pharmacokinetic parameters with therapeutic efficacy in an animal model. *J Infect Dis* 158, 831-847
- Yamaoka K, Nakagawa T (1983) A nonlinear least square program based on differential equations, multi (Runge), for Microcomputers. *J Pharm Dyn* 6, 595-606
- Yamaoka K, Terumichi N, Uno T (1978) Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations. *J Pharmacokinetic Biopharm* 6, 165-175
- Yamaoka K, Nakagawa T, Tanaka H, Yasuhara M, Okumara K, Hori R (1985) A nonlinear multiple regression program, Multi2 (Bayes), based on Bayesian algorithm for microcomputers. *J Pharmacobiodyn* 8, 246-256
- Zhi J, Nightingale CH, Quintiliani R (1988) Microbial pharmacodynamics of piperacillin in neutropenic mice of systematic infection due to *Pseudomonas aeruginosa*. *J Pharmacokinetic Biopharm* 16, 4, 355-375