

Impact du traitement des eaux d'abreuvement des porcs, des volailles et des lapins par les biocides sur la stabilité des antibiotiques

Pierre GUICHARD², Adeline BORDAS¹, Tiphaine MOREAC¹, Anne CHEVANCE¹, Jérôme BLOT¹, Angélique TRAVEL³, Anne HEMONIC², Bernadette LENORMAND⁴, Mélanie LIBER⁴, Jean LEORAT⁴, Jocelyne VERDON¹, Dominique HURTAUD-PESSEL¹, Jean-Pierre ORAND, Hélène AMAR¹, Pierre MARIS¹, Laure BADUEL¹, Sophie MOMPELAT¹

(1) ANSES – Agence nationale de sécurité sanitaire, Laboratoire de Fougères et ANMV

(2) IFIP – Institut du porc

(3) ITAVI – Institut technique de l'aviiculture

(4) SNGTV – Société nationale des groupements techniques vétérinaires

sophie.mompelat@anses.fr

RÉSUMÉ

L'eau d'abreuvement est un vecteur de traitement avantageux pour le traitement collectif des animaux. Ces eaux de boisson sont en général désinfectées avant administration aux animaux au moyen de biocides afin de garantir leur qualité sanitaire. En l'absence d'exigence européenne concernant le contenu des dossiers d'Autorisation de Mise sur le marché (AMM) sur la compatibilité des médicaments vétérinaires avec les biocides désinfectants de l'eau de boisson, il s'avère nécessaire d'évaluer les risques de détitrage des antibiotiques administrés par cette voie.

Le projet CABALE (plan ECOANTIBIO 2017) avait pour objectif général de consolider les connaissances en matière de stabilité des antibiotiques en présence de biocides pour les filières porcines, avicoles et cunicoles. Cette étude visait à évaluer la stabilité de six substances actives antibiotiques présentes dans différentes spécialités vétérinaires dans l'eau de boisson, à minéralisation « douce » ou « dure », en présence d'un biocide (l'hypochlorite de sodium ou le peroxyde d'hydrogène). Celle-ci a été réalisée d'une part dans des conditions équivalentes au stockage de la solution mère concentrée d'antibiotiques pendant 24h et, d'autre part dans des conditions équivalentes à l'injection de la solution mère dans le circuit d'abreuvement pendant 6h. Les analyses par Chromatographie Liquide couplée à un détecteur UV des échantillons d'eau étudiés ont permis de démontrer l'impact avéré des biocides désinfectants sur la stabilité de certaines substances actives. Sur les dix médicaments vétérinaires (ou « spécialités ») étudiées, le traitement de l'eau au peroxyde d'hydrogène à 50 ppm n'a impacté la stabilité que d'une seule substance active, l'amoxicilline. En revanche, il a été observé un effet significatif du traitement de l'eau à l'hypochlorite de sodium (0,5 ppm de chlore actif) sur la stabilité de sept médicaments vétérinaires, particulièrement dans des eaux « dures » (pH = 8 ; dureté 35°F). La deuxième phase de cette étude a porté sur l'étude d'une eau directement prélevée sur le terrain en élevage. Les résultats de cette phase ont permis d'attester que la stabilité des solutions de spécialité vétérinaire revêt un caractère multifactoriel essentiel à considérer pour optimiser l'efficacité des traitements antibiotiques administrés par voie orale dans l'eau de boisson, et prévenir le risque de développement de résistance aux antibiotiques. Des recommandations ont pu être avancées. Des propositions ont également été portées au niveau européen pour améliorer les recommandations dans la ligne directrice EMEA/CVMP/540/03-Rev1 sur l'évaluation de la stabilité des antibiotiques à administrer dans l'eau de boisson.

INTRODUCTION

La qualité sanitaire de l'eau d'abreuvement au niveau bactériologique et physico-chimique dans les

élevages doit être maîtrisée afin de protéger la santé des animaux ainsi que celle des consommateurs de denrées animales issues de l'élevage [2]. Les eaux de

boisson sont ainsi généralement désinfectées au moyen de biocides afin de garantir leur qualité sanitaire.

Les eaux d'abreuvement sont de plus en plus utilisées comme vecteur de traitement collectif des animaux [3]. Ce type de médication qui nécessite éventuellement l'usage de pompes doseuses, est désormais très répandu dans les différentes filières car il facilite la bonne observance des durées et des posologies pondérales thérapeutiques ainsi que la rapidité et la flexibilité d'administration.

Dans le cadre du plan ECOANTIBIO 2017, la présente étude intitulée « CABALE » a pour objectif principal de déterminer l'impact de l'usage de biocides pour la désinfection des eaux d'abreuvement des porcs, des volailles et des lapins sur la stabilité des traitements antibiotiques.

MATERIEL ET METHODES

La détermination de la stabilité des antibiotiques en présence de biocides dans l'eau de boisson a été

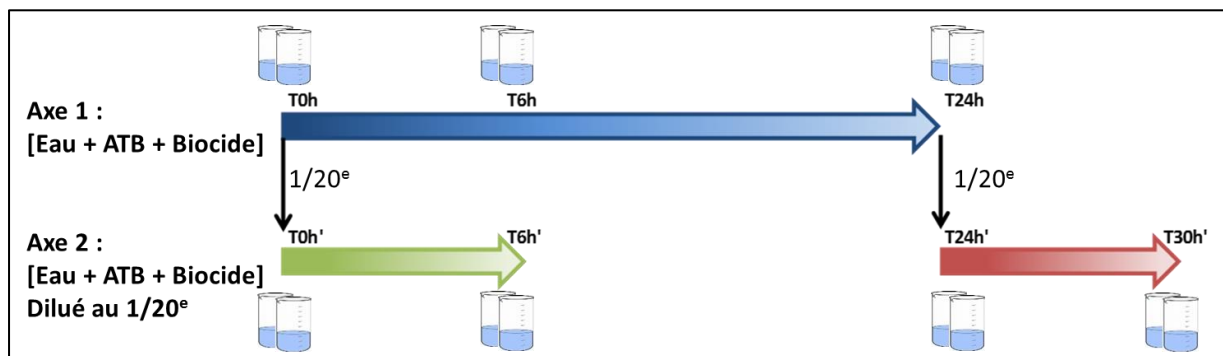


Figure 1: Design expérimental de l'axe 1 et 2 et échéances étudiées

En revanche, la présence simultanée et concomitante de biocides désinfectants et d'antibiotiques dans l'eau d'abreuvement soulève la question de l'impact des biocides sur la stabilité des antibiotiques : un risque de détitrage des antibiotiques administrés via l'eau d'abreuvement est-il possible ? En l'absence d'exigence dans les lignes directrices européennes concernant le contenu des dossiers d'AMM sur la compatibilité des médicaments vétérinaires avec les biocides désinfectants de l'eau de boisson, il semble nécessaire d'apporter des éléments de réponse sur cette problématique afin de prévenir les risques éventuels d'échec thérapeutique et le risque de sélection de souches bactériennes résistantes.

En France, des premiers éléments de réponse concernant la filière porcine ont été apportés lors d'une étude exploratoire récente intitulée « Antibi'eau » financée par France AgriMer [6]. Elle a permis de mettre en évidence un détitrage supérieur à 10 % de l'amoxicilline et de la tylosine en présence de peroxyde d'hydrogène dans une eau de source du commerce.

réalisée en deux phases. La première phase visait à évaluer la stabilité des antibiotiques en présence de biocides dans des eaux dites « standardisées » selon la ligne directrice EMEA/CVMP/540/03 Rev.1 [5]. La seconde phase a consisté à évaluer la stabilité d'une sélection de couples antibiotiques - biocides dans une eau dite « terrain » prélevée directement en élevage avicole.

Phase 1

Les antibiotiques testés ont été choisis en fonction des volumes de ventes 2015 et de leur utilisation dans l'eau de boisson dans au moins deux des trois filières sélectionnées [7], ou le cas échéant selon leur importance en médecine vétérinaire au sein des trois filières représentées. Les substances actives retenues ont été la doxycycline, l'amoxicilline, la sulfadiazine et la sulfadiméthoxine associées au triméthoprime, la tiamuline, et la colistine. Pour chaque substance active, deux spécialités vétérinaires (SV 1 et SV 2) ont été testées, à l'exception de la sulfadiazine et de la sulfadiméthoxine où une seule SV a été testée. Le choix des SV a été réalisé de manière à étudier des formulations (liquide, poudre) et des excipients

variés avec une bonne représentativité des différents titulaires d'AMM concernés et des filières d'élevages étudiées.

Deux biocides ont été retenus et choisis en fonction des pratiques usuelles en élevages en France, à savoir, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à 50 ppm stabilisé à l'acide orthophosphorique et, l'hypochlorite de sodium (NaClO) à 0,5 ppm de chlore actif.

L'étude de stabilité des antibiotiques en présence de biocide a été réalisée sur deux types d'eaux standardisées en tenant compte des critères propres à la qualité des eaux, tels que définis selon la proposition et la ligne directrice relatives à la médication par l'eau de boisson [4, 5] et permettant de couvrir la grande variété des qualités d'eaux qui peuvent être utilisées en élevage : i) Eau douce (pH = 6 ; 60 mg de CaCO₃ équivalent à 6°F), ii) Eau dure (pH = 8 ; 350 mg de CaCO₃ équivalent à 35°F)

Des méthodes analytiques par Chromatographie Liquide couplée à un détecteur UV (LC-UV) ont été optimisées, validées sur la gamme de concentration d'intérêt pour chaque principe actif, puis utilisées pour le dosage lors de l'étude de stabilité, excepté pour la méthode de dosage de la colistine pour laquelle la linéarité et la répétabilité des réponses n'ont pu être vérifiées.

Le détitrage des substances actives des spécialités vétérinaires administrées via une eau de boisson contenant des biocides, a donc été évalué à deux niveaux de concentrations, c'est à dire (Figure 1) : i) A la concentration de la solution mère présente au niveau du bac mélangeur sur 24h – Axe 1 ; ii) A la concentration de la posologie de traitement définie dans le Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP), sur une durée de 6h. Cette solution est issue d'une dilution au 1/20^e de la solution mère, simulant une pompe doseuse réglée à 5% - Axe 2.

Le premier « axe » (Axe 1 – bac mélangeur) d'étude a porté sur la stabilité des antibiotiques sur une durée de 24h, correspondant à la durée maximale pendant laquelle la solution-mère présente dans le bac mélangeur peut être conservée [4, 5] (Figure 1). Une mesure intermédiaire a également été effectuée à 6h.

Le second « axe » d'étude (Axe 2 - canalisations), portant sur la solution diluée véhiculée dans les canalisations jusqu'aux abreuvoirs correspond à un suivi sur 6h de la stabilité de la substance active. Cette durée a été définie arbitrairement comme étant la durée maximale pendant laquelle la solution de traitement peut passer dans les canalisations. Cette solution diluée a été obtenue par dilution au 1/20^e de la solution mère au temps T0, puis au temps T24h. Les échantillons dilués à T0 et T24h ont été suivis sur 6 heures (échéances T6', et T30', Figure 1Erreur ! Source du renvoi introuvable.). Ces deux échéances ont été définies comme étant représentatives des conditions sur le terrain notamment lorsqu'une eau de boisson concentrée préparée depuis 24h est finalement diluée au bout de ces 24h une nouvelle fois au 1/20^e pour être distribuée dans les canalisations à la teneur nominale en substance active prévue dans le RCP. Ce dernier cas de figure représente une situation de dégradation supposée maximale de la substance active.

Pour chacune des spécialités vétérinaires cibles de l'étude, chacun des axes a été réalisé en double. De même qu'une étude de stabilité selon l'axe 1 et l'axe 2 a également été menée en double sur des échantillons dits « témoins », c'est-à-dire ne contenant pas de biocide (i.e. contenant [eau+spécialité] uniquement).

A chaque échéance, la stabilité des médicaments a été exprimée en pourcentage de recouvrement des concentrations moyennes en substance(s) active(s) présentes dans les échantillons avec biocide par rapport à la concentration moyenne dans les échantillons sans biocide (i.e. les échantillons témoins), et non par rapport aux doses thérapeutiques définies dans les AMM. Une substance active ayant perdu plus de 10 % de sa concentration par rapport au témoin sans biocide à une échéance donnée et ayant atteint un seuil de p-valeur inférieur à 0,05 (T-test) a été considérée comme non stable. Cette valeur seuil de 10 % de perte a été admise par consensus lors du comité de pilotage du projet, et correspond au maximum acceptable dans les dossiers d'AMM. Le logiciel Graph Pad® (Prism v. 5.04) a été utilisé pour ces analyses.

Les données ont également été analysées statistiquement pour évaluer *via* l'utilisation de modèles mixtes, l'effet du biocide, de la dureté de

l'eau et du temps sur la concentration en substance active pour chaque spécialité, en solution concentrée et en solution diluée.

Phase 2

La phase 2 de l'étude, une eau dite « terrain » a fait l'objet d'études de stabilité, mais sur un nombre plus limité de spécialités vétérinaires, du fait des contraintes temporelles au projet. L'objectif de cette phase était d'évaluer l'impact du fer et du manganèse dans les eaux de boisson d'élevages sur la stabilité des antibiotiques en présence de peroxyde d'hydrogène (50 ppm).

Le choix du type d'eau retenue pour cette phase s'est porté sur une eau douce superficielle de puits, fortement chargée en fer et manganèse afin d'évaluer l'impact de ces deux éléments sur la stabilité des spécialités vétérinaires. Les concentrations en fer et manganèse excédaient d'au moins deux fois les limites réglementaires sur les eaux destinées à la consommation humaine [1] : fer total $\geq 2 \times 200 \mu\text{g/L}$, et manganèse $\geq 2 \times 50 \mu\text{g/L}$. L'échantillon d'eau comportait les caractéristiques suivantes : un pH de 6,0, une dureté de 9,0 °F, ainsi que des concentrations en fer et manganèse respectivement de 536 $\mu\text{g/L}$ et 117 $\mu\text{g/L}$. Trois substances actives ont été étudiées au cours de cette phase : l'amoxicilline (SV 2), largement employée en filière porcine ; la tiamuline (SV 1), très utilisée en filière cunicole ; et la doxycycline (SV 2), utilisée entre autres en filière avicole.

La méthodologie de l'essai de stabilité sur 30 h, les méthodes de dosages, ainsi que la méthodologie de l'analyse des données utilisées dans la phase 1 ont été reprises à l'identique (Figure 1).

Tableau 1 : Stabilité (%) ou pourcentage de recouvrement des concentrations moyennes en substance active dans les échantillons après traitement par rapport à la concentration moyenne dans les échantillons témoins

			Doxycycline		Amoxicilline		Sulfamides (Spé 1)		Sulfamides (Spé 2)		Tiamuline		Colistine (E2 + E1)	
			Spé 1	Spé 2	Spé 1	Spé 2	SDA	TMP	SDX	TMP	Spé 1	Spé 2	Spé 1	Spé 2
H ₂ O ₂	Eau douce	T0	97,1	94,9	97,6	103,1	96,8	98,1	92,9*	91,9*	101,9	106,0	98,8	98,7
		T6	100,2	102,9	99,1	72,4*	ND	ND	105,0	98,2	101,6	98,7	97,7	100,6
		T24	96,7	103,7	101,2	67,2*	97,4	98,3	85,4	86,0	100,6	99,1	101,1	100,4
		T0'	95,0	105,9	97,4	99,6	100,7	101,9*	99,1	99,5	100,9	102,0	95,3	98,8
		T6'	94,8	99,5	96,5	51,5*	99,3	99,7	88,9	87,4	100,1	107,0	97,1	98,5*
		T24'	97,0	97,3	96,9	66,7*	100,4	100,3	99,7	100,9	99,1	98,0	101,3	100,4
	T30'	97,2*	97,2	93,6	42,7*	99,4	100,7	95,7	93,4	98,4	101,5	103,7	100,2	
	Eau dure	T0	103,1	100,3	96,6	95,7	96,8	95,2	101,2	100,6	101,8	98,4	98,0	99,7
		T6	100,0	99,6	95,4	68,2*	98,2	98,1	99,8	93,2	101,4	100,3	99,9	100,6
		T24	101,7	101,5	88,0*	70,2*	100,2	100,3	99,7	99,6	101,5	99,2	100,6	99,7
		T0'	99,5	100,7	99,1	94,8	92,8	91,2	88,6	89,3	96,3	100,5	100,4	99,6
		T6'	99,3	98,7	66,1*	33,9*	100,0	101,3	101,4	101,7	93,6	101,3	100,3	98,6
T24'		98,7	99,7	88,2*	65,4*	98,9	99,0	97,6	97,5	99,0	107,9	100,3	99,7	
T30'	104,0	99,6	61,4*	27,2*	100,2	101,2	98,7	97,6	100,0	101,5	100,9	99,5		
HOCl	Eau douce	T0	98,6	96,3	95,3*	101,1	100,6	101,1	93,6	91,7	97,8	99,3	104,2	98,8
		T6	98,9	93,1	100,1	95,3	102,9	102,7	91,8*	92,1*	99,0	96,7	96,1	100,1
		T24	97,6	87,9	100,3	93,6*	101,9	100,7	100,8	98,0	100,2	98,0	98,8	99,1
		T0'	96,0	95,5	94,7	98,6*	96,9	96,6*	102,5	103,7	91,1	92,0*	87,8	74,9*
		T6'	98,3	94,6*	95,2	98,6	98,2	97,2	84,8	84,6	97,0	91,7*	82,7*	73,3*
		T24'	93,9*	94,6*	97,2	96,5	98,8	100,0	99,6	100,8	98,1	92,8*	81,5*	73,7*
	T30'	95,5*	94,1*	101,1	97,4	96,6	97,1	97,2	95,2	95,7	93,8*	79,9*	73,5*	
	Eau dure	T0	99,4	91,8	105,6	99,1	97,9	98,0	106,7	106,4	99,3	98,2	101,3	89,7*
		T6	99,1	97,0	101,7	98,3*	94,7	94,5	110,2	99,1	99,6	100,0	99,2	89,8*
		T24	99,6	98,0	104,3	103,2*	93,5	94,4	101,5	101,2	100,5	98,1	ND	89,7*
		T0'	87,7*	86,5*	88,4	90,1	94,6	98,0	99,6	99,9	90,8*	63,4*	84,3*	24,3*
		T6'	87,8*	83,6*	86,3*	87,5*	100,2	103,5	91,2	92,3	91,9*	63,2*	75,5*	29,6*
T24'		88,9*	85,9	91,9	91,1*	88,5	105,2	98,6	102,9	90,8	68,9*	65,5*	35,4*	
T30'	88,5*	84,5	90,7*	89,8*	101,0	104,6	93,9	104,1	85,1*	70,2*	64,5*	33,6*		

Stabilité < 90% * = Résultat significatif ND = Non Déterminé

RESULTATS ET DISCUSSION

De manière générale, sur les dix médicaments vétérinaires étudiés (6 substances actives cibles), le traitement de l'eau au peroxyde d'hydrogène à 50 ppm n'a impacté la stabilité que d'une seule substance active, l'amoxicilline (SV 1 et 2), au bout de 6 heures en eau douce et dure que la solution soit concentrée ou diluée. Une perte moyenne entre 12 % et 73 % (correspondant respectivement à 88 % et 27 % de recouvrement) a été observée entre 6 heures et 30 heures (Tableau 1).

En revanche, il a été observé un effet significatif du traitement de l'eau à l'hypochlorite de sodium (0,5 ppm de chlore actif) sur la stabilité de 7 SV.

Ce sont les SV préparées dans l'eau dure et diluées (*i.e.* amoxicilline, doxycycline, tiamuline, et colistine) qui ont été significativement sensibles à la présence de l'hypochlorite de sodium durant les 30 heures de

suivi des échantillons (entre 24 % et 90 % de stabilité), à l'exception de la colistine (SV 1 et 2, entre 73 % et 88 % de stabilité), qui a également été sensible en eau douce diluée (Tableau 1). Un des facteurs qui pourrait expliquer ces résultats est la concentration en chlore totale trois fois plus élevée dans les échantillons préparés dans l'eau dure (pH plutôt basique) que dans l'eau douce pour parvenir à 0,5 ppm de chlore actif. Après l'ajout des spécialités dans l'eau, le pH est souvent diminué, ce qui provoque une augmentation de l'activité du chlore disponible dans l'échantillon.

Le chlore en eau dure (pH 8 et dureté 35 °F) est donc significativement impactant. En pratique, pour obtenir une eau dure à 0.5 ppm de chlore actif dans une eau dure (pH8, 35°F) avant ajout du médicament, il faut ajouter environ trois fois plus d'hypochlorite de sodium que dans une eau douce (pH6, 6°F). Ainsi la teneur en chlore totale est 3 fois

plus élevée dans une eau dure que dans une eau douce. L'ajout des spécialités de doxycycline,

effectuée au préalable de la préparation de la solution dans le bac mélangeur afin de déterminer

Tableau 2 : Stabilité (%) ou pourcentage de recouvrement des concentrations moyennes en substance active des spécialités vétérinaires après traitement au peroxyde d'hydrogène dans une eau douce, en phase 1 et 2 de l'étude - comparaison de la stabilité effectuée entre les échantillons avec et sans biocide.

			Doxycycline Spécialité 2		Amoxicilline Spécialité 2		Tiamuline Spécialité 1	
			Phase 1	Phase 2	Phase 1	Phase 2	Phase 1	Phase 2
H ₂ O ₂	Eau douce (phase 1) ou	T0	94,9	99,7	103,1	91,2	101,9	96,9
		T6	102,9	98,6	72,4*	73,9*	101,6	95,5
		T24	103,7	88,2*	67,2*	66,2*	100,6	100,5
	Eau terrain avec Fe+Mn (phase 2)	T0'	105,9	99,2	99,6	98,5	100,9	91,7
		T6'	99,5	68,7*	51,5*	85,9*	100,1	97,2
		T24'	97,3	89,6*	66,7*	66,7*	99,1	92,0
		T30'	97,2	73,6*	42,7*	51,9*	98,4	99,7

Stabilité < 90%	* = Résultat significatif
-----------------	---------------------------

amoxicilline, tiamuline et de colistine a conduit à diminuer significativement le pH de l'eau « dure » : pH inférieur à 4 pour la doxycycline (sauf en solution diluée de la SV 2 où le pH se situe autour de 6.5), pH compris entre 6.1 (solution concentrée) et 7.8 pour l'amoxicilline, pH compris entre 3.8 (solution concentrée) et 7.0 (solution diluée) pour la tiamuline, et compris entre 6.4 (solution concentrée) et 7.8 (solution diluée) pour la colistine. Or, à un pH inférieur à 6, le chlore total (HOCl, ClO-, chloramines, organochlorés) de la solution est présent sous la forme de chlore actif (HOCl) et peut donc interagir chimiquement avec la substance active et affecter sa stabilité. La teneur initiale en chlore total étant plus élevée dans les solutions d'eau dure préparées que dans les solutions d'eau douce, les concentrations en chlore actif générées par l'ajout des médicaments dans ce type d'eau sont donc plus élevées et supérieures à 0.5 ppm. Ceci augmenterait l'action potentielle du chlore sur la stabilité des substances actives. Cette étude a montré que l'action des médicaments sur le pH des solutions est « formulation dépendante ». Cependant, on a pu également observer que les deux médicaments étudiés composés de sulfamides n'ont provoqué aucune diminution de pH des eaux dures préparées. Et ces deux médicaments n'ont subi aucune perte significative en concentration des doses de sulfamides par rapport aux témoins sans biocide. Une mesure du pH préalable dans une solution « test » comportant l'eau de traitement « terrain » et le médicament vétérinaire pourrait être

si le chlore peut être utilisé ou non. Ainsi dans le cas d'un médicament qui acidifie une solution initialement dure (pH 8, 35°F) et traitée à l'hypochlorite de sodium 0.5 ppm, il conviendrait de recourir plutôt préférentiellement au traitement par le peroxyde d'hydrogène pour la désinfection de l'eau.

Aussi, dans les élevages où l'eau est fortement concentrée en fer et le manganèse, les éleveurs utilisent préférentiellement le peroxyde d'hydrogène car le chlore actif peut être neutralisé par ces deux éléments (oxydation du fer et du manganèse par le chlore).

Le chlore en eau douce ne semble pas poser de problème sauf pour la colistine après injection dans les canalisations. Ce résultat est le seul qui diffère des conclusions de l'étude Antibieau où le protocole était différent [6]. Dans l'étude Antibieau, aucune dégradation de la colistine n'avait été notée, même après un temps de contact d'une heure avec le chlore dans les canalisations [6]. Mais la spécialité étudiée était peut-être différente de celles testées dans CABALE, où l'effet « spécialité dépendant » est ici marqué (la SV 2 est plus impactée que la SV 1).

Les deux SV de sulfamides étudiées, quant à elles, se sont révélées stables quelles que soient les conditions testées en laboratoire (type d'eau, nature du biocide, concentration en substance active).

D'autre part, l'analyse en modèle mixte a permis d'évaluer l'effet potentiel des différents paramètres : temps, dilution, dureté et spécialité vétérinaire a confirmé l'effet significatif du biocide désinfectant sur la quasi-totalité des solutions de spécialités vétérinaires, qu'elles soient concentrées ou diluées (résultats non présentés). Seules les solutions concentrées en sulfamides, en colistine et une des spécialités de doxycycline ne semblent pas impactées par la présence d'un biocide désinfectant dans l'eau, quel qu'il soit.

Les résultats obtenus lors de la phase 2 dite de « terrain » réalisée sur une eau prélevée dans un élevage comportant de fortes teneurs en fer et manganèse convergent globalement avec ceux obtenus lors de la phase 1 dans des eaux standard de laboratoire pour l'amoxicilline et la tiamuline (Tableau 2). Ainsi, de fortes concentrations en fer et manganèse ne semblent pas affecter la stabilité des spécialités étudiées.

En revanche, les résultats obtenus pour la doxycycline sont contradictoires entre la phase 1 et 2 de l'étude. La stabilité est significativement affectée par la présence de peroxyde d'hydrogène sur l'eau terrain testée en phase 2 alors qu'elle est préservée dans une eau standard (phase 1). Mais ces résultats ne peuvent être rigoureusement comparés entre eux.

Aucune conclusion tangible ne peut être émise car l'échantillon d'eau prélevé ne comportait pas les mêmes propriétés physico-chimiques et bactériologiques que les deux autres prélèvements effectués lors de la phase 2. En effet, le site de prélèvement de l'échantillon d'eau utilisé au moment de l'étude de la doxycycline a été fortement impacté par d'importantes précipitations les jours précédents. Un changement de la qualité de l'eau provoqué par des événements climatiques divers (dureté, pH, composition minérale, matière organique, etc.), une instabilité du point de captage, une hausse de la température de l'eau ou tout autre facteur entraînant une modification physico-chimique et biologique de l'eau de boisson peut donc être susceptible de conduire à un effet sur la stabilité des substances actives, initialement stables dans des conditions standards de laboratoire ou de routine sur le terrain. La variabilité des eaux « terrain » ne peut être limitée comme dans la phase 1 à des conditions contrôlées de laboratoire. La

phase 2 de cette étude a donc également permis de montrer que la stabilité des solutions de SV revêt un caractère multifactoriel en conditions terrain.

RECOMMANDATIONS

Au vu des résultats et dans les limites de ce projet, les recommandations suivantes peuvent être formulées :

- Dans la mesure du possible il conviendrait d'ouvrir les canalisations en fin de rampe pour apporter l'eau médicamenteuse en temps réel aux animaux ;
- Il conviendrait également de préparer une quantité de solution mère médicamenteuse destinée à être entièrement bue dans la journée (au plus) pour éviter une stagnation trop longue des substances actives dans les canalisations et diminuer le risque de dégradation; Par mesure de précaution et dans la mesure du possible la préparation de solution médicamenteuse et l'administration par demi-journée pourrait être préférable.
- Le bon usage de la pompe doseuse y compris la maîtrise du fonctionnement et le contrôle régulier de celle-ci doit être connus et maîtrisés par les éleveurs de même que la qualité de l'eau administrée aux animaux (notamment les paramètres physico-chimiques) ;
- Les vétérinaires doivent également connaître les facteurs influant sur la stabilité des spécialités vétérinaires dans l'eau d'abreuvement et pouvoir juger de la qualité d'une installation de distribution des médicaments via l'eau de boisson afin d'en tenir compte dans leurs prescriptions ; Une vérification du pH de l'eau chlorée avant et après ajout du médicament pourrait notamment être effectuée, afin de préconiser le biocide le plus approprié ;
- La stabilité d'une substance active pouvant être variable selon la formulation des spécialités, il serait utile que les titulaires d'AMM mènent des études complémentaires sur la stabilité de leurs spécialités vétérinaires dans différents types

d'eau contenant différents biocides pour préconiser des recommandations d'usage et signaler des points de vigilance à adopter lors de la préparation des solutions médicamenteuses dans les élevages.

Etant donné que seules deux spécialités par substance active ont été étudiées dans ce projet, les résultats obtenus ne peuvent pas être extrapolés à toutes les spécialités contenant la même substance active dans leur formulation. Il n'est donc pas possible d'émettre des recommandations d'usage pour toutes les spécialités préparées dans l'eau en présence d'un biocide particulier.

CONCLUSION

En complément des résultats du projet ANTIBI'eau, cette étude dénommée CABALE a permis d'apporter de nouvelles données et de confirmer l'impact des biocides désinfectants sur la stabilité de certains antibiotiques dans les eaux d'abreuvement des porcs, des volailles et des lapins. Les conclusions de ce projet ne concernent que les dix spécialités étudiées et ne peuvent donc pas être extrapolées à toutes les spécialités présentant la même substance active dans leur formulation.

Concernant les spécialités vétérinaires subissant une dégradation sous l'action d'un biocide désinfectant dans l'eau, il serait également intéressant d'étudier le devenir des substances actives, d'identifier leurs produits de transformation pour en évaluer *in fine* leur toxicité.

Les analyses de stabilité dans une eau dite de terrain fortement concentrée en fer et manganèse et traitée au peroxyde d'hydrogène a permis de confirmer les résultats obtenus lors des essais sur l'amoxicilline et la tiamuline dans des eaux standardisées préparées en laboratoire. Des conclusions n'ont pu être formulées pour la doxycycline en raison de la variabilité des résultats obtenus liée vraisemblablement à l'impact de la saison et du climat sur la qualité des eaux terrain.

L'ensemble de ces résultats a donc démontré le caractère multifactoriel d'une réalité du terrain complexe à prendre en compte pour optimiser l'efficacité des traitements antibiotiques dans l'eau

de boisson, et éviter les risques de sous-dosage pouvant entraîner le développement de résistance aux antibiotiques.

Des recommandations de bonnes pratiques ont pu être formulées et seront diffusées par divers canaux auprès des éleveurs et des vétérinaires.

Les résultats de ce projet ont permis d'émettre également des propositions portées au niveau européen pour améliorer les recommandations dans la ligne directrice EMEA/CVMP/540/03-Rev1 sur l'évaluation de la stabilité des antibiotiques à administrer dans l'eau de boisson. Un accord de principe a été donné par le groupe de travail européen pour commencer par adopter deux textes appelés Questions/Réponses en vue de sa modification ultérieure.

Par ailleurs, dans le cadre de la nouvelle réglementation européenne relative aux médicaments vétérinaires, des mesures appropriées pour assurer l'utilisation efficace et sûre des médicaments vétérinaires autorisés et prescrits pour administration par voie orale doivent être définies. Les travaux conduits dans ce projet permettront aux autorités françaises de porter ces recommandations au niveau européen.

REMERCIEMENTS

Financement : plan Ecoantibio 2017

Les auteurs remercient le personnel technique de l'ITAVI et de l'IFIP qui ont effectué les prélèvements d'eau en élevage.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique, JO n° 31 du 6 février 2007, SANP0720201A
- [2] Anses (2010) Etat des lieux des pratiques et recommandations relatives à la qualité sanitaire de l'eau d'abreuvement des animaux d'élevage, Anses.
- [3] Hémonic A., Hugues L., Richard R., Loiseau D., Corrége I. (2015) - L'administration de médicaments via l'eau de boisson par pompe

doseuse : motivations, freins et pratiques d'utilisation - Congrès AFMVP 2015.

- [4] EMEA Position Paper EMEA/CVMP/1090/02-FINAL (2002) Position paper on the maximum in-use shelf-life for medicated drinking water. European Medicines Agency, London.
- [5] EMEA Guideline EMEA/CVMP/540/03 Rev 1 (2005) Guideline on quality aspects of pharmaceutical veterinary medicines for administration via drinking water, London.
- [6] Hémonic, A., Pupin, P., Jacon, C., Léorat, J., Maris, P. and Corrége, I. (2017) Stabilité des antibiotiques en présence de biocides désinfectants dans l'eau d'abreuvement des porcs - Journées de la Recherche Porcine 49, 223-224.
- [7] Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2015 - Rapport annuel, ANSES, 2016.