

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – ALGER  
المدرسة الوطنية للبيطرة - الجزائر

PROJET DE FIN D'ETUDES  
*EN VUE DE L'OBTENTION*  
DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

**Contribution à l'évaluation de l'efficacité et de la toxicité subaiguë  
d'une molécule thérapeutique**

**Exemple de deux médicaments anticonvulsivants :  
le phénobarbital et la carbamazépine**

Présenté par : KACI Lamia Fahima & MEDANI Myriam

Soutenu le : 29/06/2009

Jury :

Président : Mr MOHAMMEDI (Chargé de cours).  
Promotrice : Melle BEN-MAHDI (Maitre de conférences).  
Examineur : Mme ZOUAMBI (Chargée de cours).  
Examineur : Mme AMIRECHE (Chargée de cours).

Année universitaire : 2008/2009

# REMERCIEMENTS

*Nous tenons à exprimer notre gratitude et notre profond respect :*

*Au président de notre jury Mr MOHAMMEDI chargé de cours à l'ENSV d'ALGER  
C'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant la présidence de ce jury.  
Veuillez croire en l'expression de notre gratitude et de notre respect.*

*A notre promotrice Melle BENMAHDI, Maitre de conférences à l'ENSV d'ALGER,  
Honorable promotrice, Vous nous avez inspiré le sujet de ce travail, et vous l'avez guidé avec  
attention dans son élaboration en ne ménageant aucun effort.  
Votre dynamisme, votre rigueur, votre ardeur au travail, votre permanente disponibilité et surtout  
l'équilibre que vous réalisez entre votre savoir et vos qualités humaines font de votre personne un  
modèle qui force le respect et l'admiration.*

*Au notre examinatrice Mme ZOUAMBI, Chargée de cours L'ENSV, pour avoir accepté  
d'examiner ce travail ; votre esprit scientifique est un exemple pour tout étudiant.*

*A notre examinatrice Mme AMIRECHE, Chargée de cours l'ENSV d'ALGER  
C'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant d'examiner ce travail.*

*A Monsieur ZAOUANI, R. Président Directeur Général du Groupe Pharmaceutique SAIDAL  
pour nous avoir permis de réaliser notre stage au sein de son groupe.  
Hommage respectueux*

*A Monsieur ZAOUANI, M. Dr Vétérinaire Directeur du Laboratoire de  
Pharmacotoxicologie du Centre de Recherche et Développement, à SAIDAL.  
Témoignage de notre vive gratitude et de notre profonde reconnaissance, pour sa confiance, son  
aide et ses conseils précieux. Nous lui exprimons nos sentiments respectueux.*

*A tout le personnel du Laboratoire de Pharmacie-Toxicologie  
à Melle BELKADI, Melle REGUEM, Melle CHIKHI, Mme DJABRI  
et plus particulièrement à Mme TRIBECHE.*

## DEDICACE

Je dédie ce mémoire a mes très chers parents, auxquels je ne saurais assez exprimer ma grande reconnaissance, pour tout ce qu'ils ont fait pour moi (leur immense aide et sacrifice et leur présence a mes cotè) .je vous aime, que dieu vous garde.

A la mémoire de ma tante el Djouher, tu es parti soudainement. J'aurai aimé partager ce grand moment avec toi. Tu es et tu resteras toujours chère à mon cœur.

A la mémoire de mes grands parents

A toute la famille Kaci plus particulièrement Dalila, Nana Adoudou.

A toute la famille Rezgui plus particulièrement Khalou (Arezki)

A tata Aldjia et toute sa famille et a la mémoire de tonton mouloud

A Manssour qui a toujours été la dans les moments les plus durs.

A Fetta, tu a toujours été la pour moi

A Myriam, binôme la plus agréable et la plus gentille .Je t'adore

A Nassima, Jojo, Mimar, les petits Imed et Timo

A tous mes amis de l'ENV ils se reconnaîtront

A la famille Medani.

A notre trinome Mohamed. merci

A toutes les personnes que j'aime.

FAHIMA

## DEDICACE

*Je dédie ce travail a mes parents qui ont toujours supporté mon petit grain de folie.*

*A maman Belkourt, papayi : que dieu vous garde.*

*A la mémoire de Mani et Bassidou*

*A Hanifa, Amine, Sarah, Mimed et Timo. Je vous aime.*

*A notre trinôme Mohamed .merci*

*A toute ma famille. Vous comptez beaucoup pour moi.*

*A mon serveur internet, Tatous (famille Abbad).merci*

*A Amina, c parti pour la vie.*

*A toutes les belles rencontres que j'ai faite a*

*L'ENV :Amel,Maya,Fahima,Nouara,Imene,Asma*

*tounsi ,Assia ,Zahira ,Linda,Amina,merien,Zak,Abidou ,Nazim,Lili....*

*A l'hôtel El Djazair, j'ai grandi dans tes murs.*

*A fahima, je t'adore.*

*A Séquoia qui m'a toujours donner du travail.*

*A toutes les personnes que je n'ai pas citer.*

*MYRIAM*

## LISTE DES ABREVIATIONS

GABA : Acide gamma aminobutyrique

# TABLE DES ILLUSTRATIONS

## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

<i>Liste des tableaux</i>	<i>page</i>
Tableau I : Etiologie des crises convulsives .....	3
Tableau II : Examens complémentaires ... ..	10
Tableau III : Classification des molécules anti convulsivantes.....	12

### *Liste des figures*

Figure 1 : Mécanisme contribuant à la mort cellulaire lors d'une crise convulsive.....	4
Figure 2 : Formule du phénobarbital .....	14
Figure 3: Formule de la carbamazépine.....	17

## ETUDE EXPERIMENTALE

### *Liste des tableaux*

Tableau I: Traitements administrés aux 5 lots expérimentaux lors du test d'efficacité ...	28
Tableau II: Traitements administrés aux 3 lots expérimentaux lors du test de toxicité...	29
Tableau III : Paramètre hématologiques et biochimiques étudiés lors du test toxicologique .....	30
Tableau IV : Moyennes et pourcentages de réduction des crises convulsives après traitement par Gardenal ® et Neurolal ®... ..	31
Tableau V : Moyennes de réduction des crises convulsives après traitement par le Tégrétol® et la Neurozépine®.....	32
Tableau VI : Evolution pondérale des rats témoins versus rats traités.....	33
Tableau VII : Moyennes des valeurs de la Glycémie en (g/l) des rats des lots témoins et des lots traités .....	34
Tableau VIII : Valeurs moyennes de la cholestérolémie en (g/l) des rats lots témoins et traités .....	35
Tableau IX : Valeurs moyennes des triglycérides en (g/l) des rats lots témoin et traités.....	35
Tableau X : Valeurs moyennes de la créatinine en (mg/l) des rats lots témoin et traités.....	35
Tableau XI : Valeurs moyennes de la concentration de l'urée en (g/l) des rats lots témoin et traités.....	36
Tableau XII : Valeurs moyennes de la concentration d'hémoglobine en (g/dl) des rats témoin et des rats traités.....	36
Tableau XIII : Valeurs moyennes des globules blancs des rats des lots témoin et traités.....	37
Tableau XIV : Valeurs moyennes des globules rouges des rats témoins et traités.....	37
Tableau XV : Valeurs moyennes de l'hématocrite des rats lots témoin et traités.....	37

### *Liste des figures*

Figure 1 : Différentes étapes de réalisation du test de l'électrochoc.....	27
Figure 2 : Activité anticonvulsivante du Gardenal® et du Neurolal®.....	31
Figure 3: activité anticonvulsivante de la Neurozépine® et du Tégrétol®.....	32.
Figure 4: Evolution pondérale des rats témoins et des rats traités.....	34

# SOMMAIRE

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION .....	1
I .Les crises convulsives .....	2
I.1.Définition.....	2
I.2.Etiologie .....	2
I.3.Physiopathologie des crises convulsives .....	3
I.4.Signes cliniques .....	5
I.4.1.Classification des crises convulsives .....	5
I.4.1.1.Les crises généralisées .....	5
a. Les crises de grand mal .....	5
b. Les crises de petit mal.....	6
I.4.1.2.Les crises partielles ou localisées .....	6
a. La forme à dominante motrice .....	6
b .La forme à dominante psychique .....	6
C .La forme à dominante psychomotrice .....	7
I.5.Diagnostic .....	7
I.5.1.Diagnostic étiologique .....	7
I.5.1.1.Anamnèse et commémoratifs.....	7
I.5.1.2.Examen clinique.....	8
I.5.1.3.Examen physique et neurologique .....	8
I.5.1.4.Bilan de l'examen clinique.....	9
I.5.2.Diagnostic différentiel des crises convulsives.....	9
I.5.3.Examens complémentaires.....	10
II. Traitement .....	11

II.1.Principes généraux .....	11
II.2.Définition des anticonvulsivants .....	12
II.3.Classification des anticonvulsivants.....	12
II.4.Mode d'action des anticonvulsivants.....	13
II.5.Effets indésirables des anticonvulsivants .....	13
II.6.Le phénobarbital et carbamazépine.....	14
II.6.1.Le phenobarbital .....	14
II.6.1.1.Dénomination .....	14
II.6.1.2.Formule et forme pharmaceutique.....	14
II.6.1.3.Posologie.....	14
II.6.1.4.Pharmacocinétique.....	15
a. Absorption.....	15
b.Distribution .....	15
c.Biotransformation .....	15
d.Elimination. ....	15
e.Mécanisme d'action.....	16
f.Effets secondaires .....	16
II.6.2.La carbamazépine.....	17
II.6.2.1.Dénomination .....	17
II.6.2.2.Formule et forme pharmaceutique .....	17
II.6.2.3.Posologie .....	17
II.6.2.4.Pharmacocinétique.....	17
a .Absorption .....	17
b .Distribution.....	18
c .Biotransformation.....	18
d .Elimination.....	18
e .Mécanisme d'action .....	18
f .Les effets secondaires .....	18

III. EVALUATION DE L'EFFICACITE ET DE LA SECURITE D'UNE MOLECULE THERAPEUTIQUE .....	19
III.1. CONDITIONS D'EFFICACITE.....	20
III.1.1. ETUDES PHARMACODYNAMIQUES.....	20
III.1.2. ETUDES PHARMACOCINETIQUES.....	20
III.1.3. TESTS SPECIFIQUES AUX ANTICONVULSIVANT.....	21
Crises convulsives expérimentales.....	21
III.2. CONDITIONS DE SECURITE.....	22
III.2.1. ETUDES DE TOXICITE AIGUE.....	22
III.2.2. ETUDE DE TOXICITE SUBAIGUË ET CHRONIQUE.....	22
PARTIE EXPERIMENTALE	
I.OBJECTIFS.....	24
II.MATERIELS &METHODES.....	24
II.1. ETUDE DES PROPRIETES ANTI CONVULSIVANTES (TEST DE L'ELECTROCHOC).....	24
II.1.1. ANIMAUX .....	24
II.1.2. MATERIELS .....	25
II.1.2.1. Petits matériels et instruments .....	25
II.1.2.2. Produits chimiques et réactifs .....	25
II.1.3. METHODES.....	25
II.1.3.1. Modalités et réalisation du gavage .....	26
II.1.3.2. Réalisation de l'électrochoc.....	26
II.2. ETUDE DE LA TOXICITE SUBAIGUE.....	28
II.2.1. ANIMAUX.....	28
II.2.2. MATERIELS.....	28
II.2.2.1. Petits matériels et instruments .....	28
II.2.2.2. Produits chimiques et réactifs.....	29
II.2.3. METHODES .....	29
III.RESULTATS.....	31
III.1. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTI-CONVULSIVANTE .....	31
III.1.1.MOLECULES BARBITURIQUES GARDINAL® ET NEUROLAL®.....	31
III.1.2.MOLECULES NON BARBITURIQUES NEUROZEPINE® ET TEGRETOL®...32	
III.2. ETUDE DE TOXICITE SUBAIGUE .....	33

III.2.1.OBSERVATION CLINIQUE.....	33
III.2.1. Manifestations cliniques.....	33
III.2.2. Mortalité.....	33
III.2.3. Evolution pondérale .....	33
III.2.4. Etude des paramètres biochimiques.....	34
III.2.5. Etude des paramètres hématologiques.....	36
VI. DISCUSSION &CONCLUSION.....	38
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	41
ANNEXES	

# Introduction

# INTRODUCTION

Les convulsions sont des anomalies neurologiques fréquemment rencontrées en médecine humaine et vétérinaire ; comme beaucoup d'affections chroniques, l'épilepsie nécessite la mise en place d'un traitement continu et souvent à vie. Des évaluations régulières de l'état du patient et de l'efficacité de son traitement sont alors nécessaires.

Différentes molécules médicamenteuses sont à la disposition du médecin et du vétérinaire, le premier objectif du traitement est d'atteindre un équilibre acceptable entre le contrôle des crises et les effets secondaires de ces médicaments. Malgré la présence de nouvelles molécules issues de la pharmacopée humaine le phénobarbital et la carbamazépine sont toujours recommandés en première intention.

Par ailleurs, le cout élevé des molécules mères a fortement motivé le développement de molécules génériques anticonvulsivantes aux propriétés équivalentes.

Le développement d'un nouveau médicament est processus long et laborieux qui est conditionné par la réalisation d'une expertise analytique, une expertise pharmaco-toxicologique et enfin une expertise clinique. La sécurité et l'efficacité notamment des médicaments doivent être définies avant qu'ils ne soient commercialisés. Outre les études *in vitro*, la plupart des effets biologiques de la molécule se doit d'être caractérisée chez l'animal avant de débiter les essais chez l'homme.

Ce présent travail a été par conséquent divisé en deux parties distinctes :

-Une étude bibliographique succincte sur l'étiopathogénie et la prise en charge thérapeutique des crises convulsives d'une part et l'évaluation de l'efficacité et de la sécurité d'une molécule médicamenteuse d'autre part.

-Une étude expérimentale qui a eu pour principaux objectifs

- L'évaluation des propriétés anti convulsivantes de deux médicaments antiépileptiques : le Neurolal®, générique du phénobarbital, produit SAIDAL versus Gardéнал® (produit de référence) et la Neurozepine®, générique de la carbamazépine produit SAIDAL versus Tégréтол® (produit de référence).
- La réalisation d'une étude comparative de la toxicité subaiguë du Neurolal® versus Tégréтол® suite à une administration réitérée pendant 14 jours.

---

## I. LES CRISES CONVULSIVES

### I.1. DÉFINITION

Une crise convulsive peut être définie comme une altération comportementale spontanée ou comme une expérience subjective découlant d'une décharge simultanée excessive d'un ensemble de neurones.

Les crises convulsives aiguës symptomatiques surviennent dans une relation temporelle étroite par rapport à un stimulus, qu'il soit toxique ou d'une autre origine. Il est usuel de faire une distinction entre la notion d'épilepsie, décrivant un phénomène spontané, et les crises convulsives induites notamment par des médicaments, des substances illicites ou des agents de l'environnement.

### I.2. ETIOLOGIE

Les crises convulsives peuvent apparaître suite à des :

- Causes intracrânienne (lésion structurale) ;
- Causes extra crâniennes (dérèglements de l'homéostasie cellulaire cérébrale et systémique, hypoglycémie ou encéphalose hépatique par exemple).

Si aucune cause intra ou extra crânienne n'a pu être mise en évidence, l'origine sera dite primaire encore appelée idiopathique ou essentielle. (*Cauzinille, 1997 ; in Ville, 2005*) (Tableau I).

Tableau I : Etiologies des crises convulsives

Causes intracrâniennes	Traumatismes, Tumeurs, hydrocéphalie congénitale, lissencéphalie...
Causes extra crâniennes	<i>Origine métabolique</i> Hypoglycémie, hypocalcémie, affections hépatiques, déséquilibre acido-basique, hypoxie
	<i>Origine toxique</i> Métaux lourds (plomb), pesticides (strychnine, métaldéhyde, crimidine), éthylène glycol, organochlorés et organophosphorés.
	<i>Origine infectieuse :</i> virus (maladie de carré, la rage, maladie d'Aujeszky...), bactéries, mycoses (cryptococcose...)
	<i>Origine parasitaire</i> toxoplasmose
Origine primaire ou idiopathique	Epilepsie essentielle

(D'après Moiron, 1992)

### I.3. PHYSIOPATHOLOGIE DES CRISES CONVULSIVES

Le déroulement de la crise convulsive, peut être divisé en deux phases successives (Berent, 2003 ; in Diard, 2004): une phase compensatoire pendant les 30 premières minutes, et une phase de décompensation ensuite.

#### *Phase compensatoire (0-30 minutes)*

Le cerveau tente de compenser la demande accrue en oxygène et en glucose, en augmentant l'apport sanguin cérébral. La fréquence et le débit cardiaque, de même que la pression artérielle sont augmentés, et on note une élévation des catécholamines circulantes. Ceci provoque une stimulation sympathique qui se traduit par une hyperthermie, une augmentation de sécrétions bronchiques, une hyper salivation et des vomissements. De plus l'hyperactivité musculaire contribue à cette augmentation importante de la température corporelle. Une acidose lactique, apparaît dès le début de la crise, due au métabolisme anaérobie excessif secondaire à l'hyperactivité neuronale et musculaire, à l'augmentation de la glycolyse, à l'hypoxie tissulaire, à la dépression respiratoire et à

la libération de catécholamines. D'autres désordres métaboliques peuvent également être présents : hypoglycémie, hypo ou hyperkaliémie, et hyponatrémie.

*Phase de décompensation (> 30 minutes)*

Les mécanismes mis en place jusqu'alors ne suffisent plus à fournir les besoins métaboliques élevés du cerveau. Le flux sanguin cérébral devient alors dépendant de la pression sanguine systémique, ce qui résulte en une hypotension, une diminution de l'apport sanguin et du métabolisme cérébral entraînant ischémie et mort neuronale. Parallèlement, une hypoxie systémique, une hypertension et un œdème pulmonaire, et des arythmies cardiaques peuvent se développer. Enfin, les dommages hypoxiques cumulatifs affectent tous les organes avec un risque de défaillance multi-organes. L'augmentation de la pression intracrânienne peut entraîner le développement d'un œdème cérébral.

La succession de ces mécanismes physiopathologiques explique l'urgence que représente le développement d'un état de mal chez l'animal comme chez l'homme.

Des déficits neurologiques temporaires, (qui peuvent durer jusqu'à une voire deux semaines) ou permanents peuvent être observés suite à un statut épileptique, même si celui-ci a été contrôlé. Le cortex, notamment dans sa partie visuelle et sensorielle, est très sensible à l'hypoxie (Cauzinille, 2000, Diard, 2004).

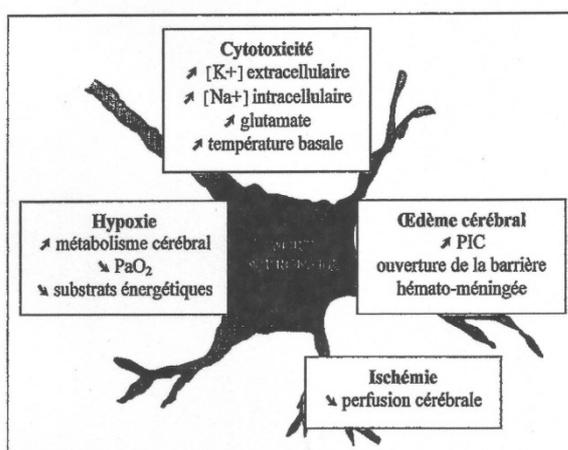


Figure 1: Mécanisme contribuant à la mort cellulaire lors d'une crise convulsive (Podelle, 1996)

---

## I.4. SIGNES CLINIQUES

Les convulsions sont une des anomalies neurologiques les plus rencontrées en médecine vétérinaire; leur compréhension permet d'orienter le diagnostic.

Les convulsions peuvent être classées en deux grands groupes selon leurs manifestations cliniques et électroencéphalographiques lorsque cet examen est disponible : les «crises généralisées» et les «crises partielles».

La classification des crises convulsives est basée sur les signes cliniques et électroencéphalographiques, chez l'homme. Malheureusement, le manque de données électroencéphalographiques chez le chien empêche la réalisation d'une classification aussi précise qu'en humaine.

### I.4.1. CLASSIFICATION DES CRISES CONVULSIVES

Selon que la décharge se produit dans tout le cortex cérébral ou seulement une région de celui-ci, les crises sont dites « généralisées » ou « partielles » (*Anonyme, 2006*).

#### I.4.1.1. Les crises généralisées

Elles se manifestent par des perturbations psychiques, sensorielles et motrices. On peut distinguer :

##### *a. Les crises de grand mal*

###### ❖ Phase d'aura

C'est la période prémonitoire, l'animal devient triste, inquiet ou agité ; il change d'attitude. Elle peut durer plusieurs minutes.

###### ❖ Phase tonique

Caractéristique de la crise du grand mal elle débute par une chute brutale sur le sol, l'animal est en décubitus latéral, membres tendus, tête en arrière, colonne vertébrale en hyperextension (opisthotonos), et les mâchoires serrées. Les pupilles sont en mydriase avec les yeux fixés. La respiration est arrêtée (apnée). Cette phase dure 1 à 2 minutes.

---

❖ Phase clonique

Durant cette phase, sont observés : des mouvements de pédalage des membres, nystagmus, des mâchonnements ; des mouvements respiratoires saccadés, une salivation abondante, mousseuse, parfois, émission d'urine de fèces.

Cette phase est peu plus longue que la phase tonique, elle dure environ 3 à 6 minutes. Les contractions cloniques deviennent peu à peu moins fortes et moins nombreuses.

La crise se termine par une :

❖ Phase de stertor

Caractérisée par une respiration bruyante, due à l'encombrement des voies respiratoires supérieures par la salive « respiration stertoreuse ». Puis : un retour au calme est observé. Certaines anomalies comportementales peuvent réapparaître (période de confusion, période de sommeil prolongée).

*b. Les crises de petit mal*

Caractérisées par une brève perte de conscience (absence) de quelques secondes ; ces pertes sont associées ou non à des phénomènes moteurs mineurs. Le plus souvent ces crises passent inaperçues.

1.4.1.2. Les crises partielles ou localisées

Elles peuvent prendre plusieurs formes :

*a. La forme à dominante motrice*

Se caractérise par des contractions tonico-cloniques (convulsions), limitées à une région ou des crises giratoires l'animal, qui tourne en rond, puis tombe et perd conscience.

*b. La forme à dominante psychique*

Dominée par des hallucinations : l'animal paraît impressionné par un objet imaginaire, et essaie par exemple de capturer une mouche.

*c. La forme psychomotrice*

L'animal présente des mouvements de mâchonnement plus ptyalismes ainsi qu'une altération de la conscience.

---

*NB : les crises partielles peuvent être les prodromes d'une crise généralisée : c'est-à-dire qu'elles peuvent se généraliser en quelques minutes, ce qui rend la distinction avec la crise généralisée difficile ; surtout en absence d'observation directe (Morailion, 1998).*

## I.5. DIAGNOSTIC

Bien que le diagnostic des crises convulsives soit en général assez simple, il est impératif de s'assurer que l'on est bien face à ce type de signes cliniques en premier lieu. Le diagnostic de l'épilepsie se fait ensuite par exclusion de toutes les autres causes pouvant donner lieu à des convulsions (Frontini, 2006)

### I.5.1. DIAGNOSTIC ETIOLOGIQUE

Plus complexe, le diagnostic étiologique est souvent difficile ; cependant un bon examen clinique succédant à une anamnèse bien faite, le tout renforcé par quelques examens complémentaires, permettra une bonne approche (Morailion, 1998).

*Les syndromes convulsifs sont fréquents en médecine canine, un peu moins en médecine féline.*

#### I.5.1.1. Anamnèse et commémoratifs

Le dialogue avec le propriétaire est indispensable pour établir le diagnostic des crises convulsives. La plupart du temps le vétérinaire ne voit pas l'animal en crise et doit se référer complètement aux dires du propriétaire. Ainsi il est important d'insister sur le déroulement de la crise, la nature, la durée, l'état de l'animal avant et après la crise. (Fanael-Barett, 1992 in Frontini, 2006).

Selon Shell, l'approche clinique d'un animal qui présente des crises convulsives devrait se faire en trois étapes :

1. Obtention d'une description précise de l'activité de l'animal (niveau de conscience, mouvement involontaires, salivation, miction, défécation, durée des crises, phase d'aura...).
2. Recueil de l'historique (médication en cours, antécédents pathologiques, traumatismes, possible exposition à des toxiques sans oublier le statut vaccinal)
3. Réalisation d'un examen clinique général ainsi qu'un examen neurologique complet. (Shell, 1998 in Ville, 2005)

#### I.5.1.2. Examen clinique (général)

---

Il doit être complet ; avec une attention particulière accordée aux appareils : cardiovasculaire et locomoteur ;

*Appareil cardiovasculaire* : dont certaines anomalies engendrent une insuffisance circulatoire responsable de troubles cérébraux.

*Appareil locomoteur* : développement d'une amyotrophie localisée. (Lapras, et al. 1976 in Huguet, 1988).

#### I.5.1.3. Examen physique et neurologique

Il associera :

- ❖ L'observation des réactions posturales : sautellement, proprioception
- ❖ Un examen de la sensibilité ;
- ❖ Un examen ophthalmique : test du clignement à la menace ; réflexes pupillaires...

Cependant, un examen classique ne permet pas d'exclure une cause intracrânienne (épilepsie essentielle (*Morailon ,1998*)).

---

#### I.5.1.4. Bilan de l'examen clinique

Suite à la réalisation de l'examen clinique de l'animal, il peut être proposé au propriétaire différentes options :

- ❖ Ne pas réaliser plus d'examens: cette attitude est envisageable si aucun déficit neurologique n'a été constaté, si les crises sont d'emblée généralisées et que l'animal est considéré comme normal entre les crises.
- ❖ Réaliser certains examens nécessaires à l'élimination d'une cause métabolique ou d'une cause structurale, en fonction des hypothèses diagnostiques les plus probables.
- ❖ Faire réaliser tous les examens nécessaires pour s'assurer qu'aucune autre affection ne peut expliquer les crises convulsives récidivantes. (*Cauzinille, 2000 in Diard, 2004*).

#### I.5.2. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL DES CRISES CONVULSIVES

De nombreuses pathologies peuvent être à l'origine de la survenue de crises convulsives. Il est possible d'établir une liste dans le cadre d'un diagnostic différentiel et de les classer selon des facteurs spécifiques comme : l'âge, le sexe, la race, la rapidité d'apparition... (Jones in Schear ,2006).

*L'âge du patient* est un bon critère à l'établissement des hypothèses diagnostic, en effet :

Si le chien a moins d'un an, les causes congénitale, héréditaire, infectieuse, métabolique, toxiques sont privilégiées.

S'il a entre 1 et 3 ans, l'origine génétique (épilepsie essentielle), et toutes les autres causes sont envisageables.

Enfin s'il est âgé de plus de 4 ans, Les troubles métaboliques (hypoglycémies), les troubles cardiovasculaires (arythmie, thromboembolie) ou les tumeurs (primitive ou métastatique) sont des étiologies fréquentes. (*Loden et al; 1983 in Huguet.1988*).

---

### I.5.3. EXAMENS COMPLEMENTAIRES : (Morillon ,1998)

Les examens complémentaires sont choisis en fonction des hypothèses diagnostiques retenues, de la motivation du propriétaire et du rapport coût/sensibilité/spécificité des examens (Tableau I).

Tableau II : Examens complémentaires

Examens nécessaires	Numération et formule sanguine Urée-créatinine, Calcium, glycémie ; Phosphatase alcaline, transaminases SGPT	
Examens souhaitables	Ponction du liquide céphalo-rachidien (pression, nombre de cellules, taux de protéines) Radiographie du crane, EEG	(D' apr
Examens utiles dans certains cas	Scintigraphie ; Scanner. échographie	ès Mo rail

*lon et al, 2008)*

*Le diagnostic d'épilepsie essentielle reste un diagnostic d'exclusion. (Morillon et al ,2008)*

## II. TRAITEMENT

Plusieurs molécules antiépileptiques sont à la disposition du vétérinaire : elles permettent d'empêcher l'apparition et la propagation des phénomènes électriques anormaux au sein du cortex cérébral, afin de contrôler les crises convulsives.

Le but du traitement est de rendre une vie à peu près normale à l'animal et au propriétaire. (Thomas, 2000 in Bieder, 2001).

### II.1. PRINCIPES GENERAUX

Le traitement de la crise est à distinguer du traitement de fond qui durera des années, voire toute la vie de l'animal, car il n'existe pas de traitement curatif (Touitou, 2007).

Le traitement a pour objectif la suppression des crises épileptiques, en évitant au maximum les effets indésirables aux patients (Talber et al. 2008). Il est inutile de traiter un animal dès la 1ère crise et il faut éviter de traiter un animal avant d'établir un diagnostic étiologique, sauf si les crises sont trop fréquentes ou trop graves (Morailon, 1998).

Il est fortement conseillé de commencer par une monothérapie, plutôt qu'une polythérapie. (Thomas, 2000 ; in Bieder, 2001) et d'instaurer le traitement progressivement, avec un anticonvulsivant choisi selon le syndrome convulsivant. La posologie sera augmentée jusqu'à disparition totale des crises, dans la limite d'une tolérance progressive. En cas d'efficacité insuffisante, il est impératif de changer d'anticonvulsivant en respectant les mêmes règles d'instauration progressive. La bithérapie ne doit être instaurée qu'après échec de plusieurs monothérapies (Talbert et al, 2008).

## II.2. DEFINITION DES ANTICONVULSIVANTS

Ce sont des médicaments capables de supprimer ou de diminuer la durée, la fréquence, ou la sévérité des crises convulsives, et les autres manifestations de l'épilepsie (Talbert *et al*, 2007) tout en n'entraînant pas la sédation totale du système nerveux central (Herve, 1999). Cette médication est donc suspensive des crises mais non curative (Cohen, Jacquot, 2008).

## II.3. CLASSIFICATION DES ANTICONVULSIVANTS

Tableau III : Classification des molécules anti-convulsivantes

Anticonvulsivants de première génération	
<i>Anticonvulsivants barbituriques</i>	Phénobarbital (Aparoxal ®, Gardéнал®) Primidone (Mysoline®)
<i>Anticonvulsivants non barbituriques</i>	Phénytoïne (Di-hydan®) Fosphénytoïne (Prodilantin®) Valproate de sodium (Dépakine®) Carbamazépine (Tégréтол®) Ethosuximide (Zarontin®) Clonazepam (Rivotril®) Diazépam (Valium®)
Anticonvulsivants de deuxième génération	
:	Valpromide (Dépamide®) Felbamate (Taloxa®) Progamide (Gabréne®) Vigabatrin (Sabril®) Lamotrigine (Lamictal®) Gabapentine (Neurotin®) Tiagabine (Gabitril®) Topiramate (EpiTomax®)

(D'après Spriet *et al*, 1997)

## II.4. MODE D'ACTION DES ANTICONVULSIVANTS

Les anticonvulsivants sont des molécules permettant de stabiliser les membranes neuronales et de diminuer la propagation de l'excitabilité menant à des convulsions. Cela est permis, soit par une diminution de la conductivité ionique et de l'hyperpolarisation des membranes, soit indirectement par potentialisation de l'activité des neurotransmetteurs inhibiteurs comme le GABA (*Dyer et Shell ,1993 ; in Frontini ; 2006*).

## II.5. EFFETS INDESIRABLES DES ANTICONVULSIVANTS

La toxicité potentielle des différents médicaments utilisés est un souci constant lors du suivi des patients. (AUZEPY ET MANIGAND ; 1990), ainsi la surveillance du traitement est cruciale car un même médicament contrôle certaines types de crises mais peut en aggraver d'autres (*Touitou, 2007*)

Certaines réactions sont en rapport avec l'activité pharmacologique du produit ; elles peuvent être le résultat d'un surdosage a l'occasion d'un excès d'absorption, d'un défaut d'élimination ou fait essentiel, d'interactions métaboliques entre différents médicaments pris conjointement (*Auzepy et Manigand, 1990*)

Ces effets indésirables peuvent êtres précoces ou d'apparition plus tardive et concernent aussi bien le système nerveux central que le système gastro-intestinal, cutané ou d'autres.

## II.6. LE PHENOBARBITAL & LA CARBAMAZEPINE

Dans le cadre de ce travail, nous détaillerons particulièrement deux molécules anticonvulsivantes : le phénobarbital (barbiturique) et la carbamazépine (non barbiturique) qui ont fait l'objet de notre travail expérimental.

### II.6.1. LE PHENOBARBITAL

#### II.6.1.1 Dénomination

*Dénomination commune internationale : Phénobarbital*

*Nom commercial : Gardéna®*

#### III.6.1.2. Formule et forme pharmaceutique

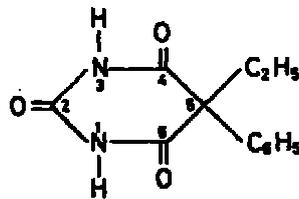


Figure2: Formule du phénobarbital (*Cohen et Jacquot, 2008*)

Le phénobarbital est une molécule dont l'activité anticonvulsivante est potentialisée par la présence d'un groupement phényle en position 5. (*Mc Namara, 1996 in Bieder, 2001*).

*Forme pharmaceutique : orale et injectable*

#### II.6.1.3. Posologie

Chez le chat : 1,5 à 2,5 mg/kg 2 fois /jour

Chez le chien : 2 à 3 mg/Kg/2 fois/jour.

(*Morillon, 1998*)

#### II.6.1.4. Pharmacocinétique

##### a. Absorption

Le phénobarbital est un acide faible, il est donc bien absorbé par le tube digestif après une administration orale : sa biodisponibilité orale est de 85 à 95% (Boothe, 1996 in Diard, 2004).

La concentration plasmatique maximale est obtenue en 4 à 8 heures après prise orale (Moraillon, 1998). Sa demi-vie est de 48 à 72 heures et l'équilibre thérapeutique est obtenu en 2 semaines.

##### b. Distribution

Le phénobarbital se fixe à 45% sur les protéines plasmatiques. (Boothe, 1996 in Diard, 2004). La concentration plasmatique d'équilibre n'est atteinte que très lentement : 10 à 15 jours.

Les variations du PH sanguin modifient les rapports de concentration entre formes ionisées et non ionisées et modifient le transfert du plasma vers les tissus.

Le phénobarbital diffuse dans tout l'organisme, notamment dans le cerveau, en raison de sa liposolubilité (Schmitt, 1980).

##### c. Biotransformation

Le phénobarbital est pour 80%, métabolisé en dérivé p-hydroxylé et éliminé sous forme glucuro-conjugué. (Schmith ; 1980)

##### d. Elimination

Environ 25% de la molécule mère est éliminée par le rein. L'alcalinisation des urines diminue sa réabsorption tubulaire par ionisation de la molécule et donc augmente son excrétion urinaire (Mc Namara ; 1996, in Bieder, 2001).

##### e. Mécanisme d'action

Le phénobarbital agit en augmentant le seuil épiléptogène et en diminuant la propagation des décharges neuronales. Il déprime spécifiquement le centre moteur du cortex cérébral (Boothe, 1998 in Diard, 2004).

Le phénobarbital diminue les crises épiléptiques en améliorant la réponse à l'effet inhibiteur post-synaptiques du GABA (acide gamma aminobutyrique) par une action sur son récepteur. Il y a

activation des canaux à chlore, ce qui provoque une augmentation intracellulaire de la concentration en chlore et une hyperpolarisation membranaire. (Mc Namara ; 1996, in Bieder ,2001).

Le phénobarbital inhibe aussi l'action du glutamate et probablement le flux de calcium transmembranaire neuronal.

Cette molécule a un effet antiépileptique à des doses inférieures aux doses hypnotiques. (Mc Namara 1996, in Bieder ,2001). La concentration thérapeutique est comprise entre 14 et 45 µg/ml.

Dans cette fenêtre de concentrations, 60% des chiens épileptiques traités voient leurs crises disparaître (Farnbach ,1984 in Frontini ,2006).

#### f. Effets secondaires

La sédation est l'effet secondaire principal du phénobarbital mais elle est surtout présente dans les quelques semaines qui suivent soit la mise en place du traitement, soit l'augmentation des doses. Une hyperexcitabilité ou de l'agitation peuvent également être remarquées notamment dans la première semaine de traitement. La polyurie, la polydipsie, la polyphagie et un gain de poids sont les principaux effets secondaires à long terme (Bollinger et Kline, 2000 in Frontini, 2006)

Une élévation moyenne à modérée des phosphatases alcalines et des autres enzymes hépatiques peuvent également être mises en évidence. Cependant cela n'indique pas forcément une atteinte hépatique sévère. Les hépato-toxicités les plus importantes sont rencontrées dans le cas où les concentrations sériques en phénobarbital sont supérieures à 35µg/ml. Les signes cliniques sont alors l'anorexie, la sédation, l'ataxie, l'ictère et l'ascite (Thomas, 2000 in Frontini, 2006)

## II.6.2. LA CARBAMAZEPINE

### II.6.2.1 Dénomination

*Dénomination commune internationale* : Carbamazépine

*Nom commercial* : Tégrétol®

### II.6.2.2. Formule et forme pharmaceutique

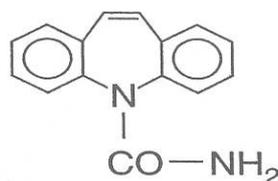


Figure 3: Formule de la carbamazépine (Cohen et Jacquot, 2008)

La carbamazépine n'existe que sous forme orale. (Katzung ,2006).

#### II.6.2.3. Posologie

10 mg/ Kg/ 2 fois par jour. (Morailon et al ,2007).

#### II.6.2.4. Pharmacocinétique

##### *a. Absorption*

L'absorption de la carbamazépine est lente et aléatoire car présente une très faible solubilité en milieu aqueux. La biodisponibilité absolue ne peut être évaluée car il n'existe pas de forme intraveineuse (Katzung ,2006).

#### *b. Distribution*

La carbamazépine est fortement liée aux protéines plasmatiques (70 à 80%). Elle diffuse rapidement dans l'organisme (Houin ,1990).

#### *c. Biotransformation*

La carbamazépine est métabolisée dans le foie (Neal ,2003) ; Elle est métabolisée en un métabolite correspondant au dérivé 10-11 époxyde ; ce dernier est stable, actif, et peut être responsable d'effets indésirables. (Houin ,1990 ; Cohen, 2008).

Les principales voies métaboliques sont : L'époxydation, l'hydroxylation, et la glucuroconjugaison (Houin ,1990).

#### *d. Élimination*

Rénale

#### *e. Mécanisme d'action*

La carbamazépine est active sur les convulsions dues au choc électrique maximal. Elle bloque les canaux sodiques et diminue la transmission synaptique en agissant au niveau pré synaptique (Katzung ,2006).

#### *f. Les effets secondaires*

La carbamazépine est un inducteur enzymatique ; son efficacité peut diminuer au bout d'un certain temps. Le phénomène d'épuisement est dû à sa caractéristique d'auto-induction enzymatique. (Houin ,1990 ;Auzepy et Manigang , 1990).

Les principaux effets secondaires sont la sédation, sécheresse de la bouche, vomissement.

### III. EVALUATION DE L'EFFICACITE ET DE LA SECURITE D'UNE MOLECULE THERAPEUTIQUE

Le développement d'un nouveau médicament est long processus semé de nombreux d'obstacles, dont la durée moyenne varie de 7 à 12 ans. A l'issue de cette période, une demande

d'autorisation de mise sur le marché (AMM) est déposée par le laboratoire pharmaceutique aux autorités compétentes de chaque pays.

Le dossier d'AMM comporte trois parties :

*Une expertise analytique* : où sont répertoriées les caractéristiques physico-chimiques et les méthodes de fabrication et de contrôle.

*Une expertise pharmaco-toxicologique* : qui comporte les études pharmacologiques et toxicologiques chez l'animal.

*Une expertise clinique* : correspondant aux études d'activité du médicament chez l'homme ou l'espèce cible, sur son métabolisme sa toxicité éventuelle à court ou long terme.

Ces études se divisent en quatre phases :

- ❖ Phase I : Etude de la sécurité de la molécule thérapeutique (pharmacocinétique).
- ❖ Phase II : Etude de l'activité, son but est de rechercher la dose efficace ; (pharmacodynamie).
- ❖ Phase III : Etude d'efficacité, son but est de démontrer l'efficacité thérapeutique (essais comparatifs) et la tolérance.
- ❖ Phase IV : Etude d'utilité, son but est de mesurer l'efficacité, du bénéfice, du risque dans les conditions usuelles de prescription (pharmacovigilance).

*(Talbert et al, 2007).*

*La sécurité et l'efficacité des médicaments doivent être définies avant qu'ils ne soient commercialisés. Outre les études in vitro, la plupart des effets biologiques de la molécule se doivent d'être caractérisés chez l'animal avant de débiter les essais chez l'homme.*

Nous insisterons dans ce présent travail sur les études menées chez l'animal ;

### III.1. CONDITIONS D'EFFICACITE

Ces conditions sont déterminées par les études pharmacodynamiques et pharmacocinétiques.

#### III.1.1. ETUDES PHARMACODYNAMIQUES

Elles visent à définir l'effet principal du produit ou l'effet thérapeutique, son mécanisme d'action, ses effets secondaires et les doses relatives entraînant l'effet principal et les effets secondaires.

En pratique : la première phase est celle du «screening» qui correspond à l'exécution systématique d'une série de tests qui permettent de mettre en évidence l'activité et la sélectivité du médicament. La deuxième phase comporte souvent, chez différentes espèces animales, des études approfondies précisant l'effet observé chez l'animal sain ou chez l'animal malade.

Ces études sont le plus souvent réalisées chez le rat, le lapin ou le chien.

### III.1.2. ETUDES PHARMACOCINETIQUES

Elles conditionnent les conditions d'absorption, de diffusion et d'élimination du produit, et de son métabolisme dans l'espèce concernée (*Bouvenot etVray, 2006*).

### III.1.3. TESTS SPECIFIQUES AUX ANTICONVULSIVANTS

Les méthodes d'étude consistent à rechercher soit la dose d'antiépileptique qui empêche la crise convulsive électrique, soit la dose qui élève le seuil d'excitation électrique en faisant varier l'intensité et la durée de la stimulation électrique ou chimique (*Cohen et Jacquot, 2008*).

#### Crises convulsives expérimentales

Elles consistent à induire des convulsions : électriquement, chimiquement...

*Excitation électrique* : un électrochoc est pratiqué sur l'animal (rat, lapin, souris...), par stimulation électrique trans-crânienne à l'aide d'électrodes temporales, auriculaires... puis un courant électrique est appliqué ; et l'animal est observé.

*Excitation chimique* : Par administration d'un stimulant bulbaire, le pentétrazol...

*Crise audiogène* : la perception d'un son de longueur d'onde, fréquence et intensité déterminées (sifflet de Galton) provoque des crises convulsives chez la souris et le rat, après un temps de latence de 20 à 30 secondes.

*Foyer épileptogène chronique* : des lésions situées dans le pont, par congélation localisée ou par dépôt stéréotaxique d'alumine, créent un foyer épileptogène chronique.

## III.2. CONDITIONS DE SECURITE

Ces conditions sont définies par les études toxicologiques.

### III.2.1. ETUDES DE TOXICITE AIGUE

Elles visent à déterminer les doses toxiques chez l'animal et les organes souffrant sélectivement de cette toxicité.

Elles sont pratiquées chez deux espèces de mammifères au moins ; avec deux voies d'administration au moins ; une seule administration avec 14 jours d'observation.

Pour chaque condition expérimentale, sont déterminées :

- La dose létale 50 (DL 50), dose maximale tolérée sans mort ;
- La dose létale 100(DL 100), dose minimale pour induire la tous les animaux meurent ;
- Les conditions de la mort (convulsions, mort brutale... et si possible la cause de la mort).

### III.2.2. ETUDE DE TOXICITE SUBAIGUË ET CHRONIQUE

Ce sont des études de toxicité en administration réitérée :

Les études sont effectuées sur deux espèces de mammifères, dont l'un n'est pas un rongeur (par exemple le rat ou le chien). Le choix de l'espèce dépend du métabolisme de la substance, qui doit être proche du métabolisme prévisible chez l'espèce cible.

Dans chaque espèce, quatre lots d'animaux sont individualisés : trois d'entre eux reçoivent trois doses différentes du produit et un lot sert de témoin.

Les doses sont déterminées en fonction des données de la toxicité aigue. Il est utile que la dose supérieure fasse apparaitre des effets nocifs.

La voie d'administration est la voie prévue pour l'emploi thérapeutique. L'administration est poursuivie chaque jour, durant 6 mois, un an ou plus. La durée de l'étude dépend de la durée prévisible de la prescription thérapeutique chez l'espèce cible.

La surveillance est clinique, biologique, para-clinique et, à terme, anatomique. Tous les animaux sont sacrifiés. Tous les organes sont systématiquement pesés et étudiés en histologie.

Les diverses données de toxicologie sont interprétées en fonction de l'exposition des animaux à la substance étudiée. Il faudra, par exemple, connaitre avec précision les concentrations plasmatiques d'une substance chimique en fonction des différentes doses administrées, afin d'interpréter les données de toxicologie sur de nombreuses études pharmacocinétiques. (*Bouvenot et Vray, 2006*).

Les objectifs de l'étude de la toxicité subaiguë et chronique sont de mettre en évidence les organes sensibles à l'action toxique du médicament.

Seront également effectuées :

- ❖ Les études sur les effets sur la fonction de reproduction ;
- ❖ L'étude de mutagenèse ;
- ❖ Les études de cancérogénèse.

*(Katzung, 2006)*

## I. OBJECTIFS

Notre étude avait pour principaux objectifs :

1. L'évaluation des propriétés anti convulsivantes de deux médicaments antiépileptiques :
  - Le Neurolal<sup>®</sup>, générique du phénobarbital, produit SAIDAL versus Gardéнал<sup>®</sup> (produit de référence).
  - La Neurozepine<sup>®</sup>, générique de la carbamazépine produit SAIDAL versus Tégréтол<sup>®</sup> (produit de référence).
  
2. La réalisation d'une étude comparative de la toxicité subaiguë du Neurolal<sup>®</sup> versus Tégréтол<sup>®</sup>.

L'étude s'est déroulée au sein du Laboratoire de Pharmacotoxicologie du Centre de Recherche et Développement (Mohammedia) du groupe SAIDAL.

## II. MATERIELS & METHODES

### II.1. ETUDE DES PROPRIETES ANTI CONVULSIVANTES (TEST DE L'ELECTROCHOC)

#### II.1.1. ANIMAUX

Des souris de souche NMRI (Naval Memorial Research Institute), de sexe male et pesant 20 g ont été réparties aléatoirement en 5 lots de 10 souris chacun.

Les cinquante souris reçu une alimentation identique à base de granulés (ONAB) et un abreuvement *ad libitum*.

Les souris étaient hébergées dans une animalerie standard présentant une humidité de 55 à 60 % et une température contrôlée de  $21^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Enfin la durée de l'éclairage était de 12 heures.

Les souris étaient mises à jeun, la veille du test.

## II.1.2. MATERIELS

## II.1.2.1. Petits matériels et instruments

PETITS MATERIELS ET CONSOMMABLES	INSTRUMENTS
Mortier en porcelaine	Balance pour animaux
Sonde de gavage	Appareil a électrochoc « Rodent Shocker »
Cages	
Eprouvettes de 10, 20, 50,100 ml	
Seringues de 1ml, 2ml	

## II.1.2.2. Produits chimiques et réactifs

Neurolal® SAIDAL	Eau distillée
Gardéna® SANOFI-AVENTIS	Eau physiologique 0,9 %.
Neurozepine® SAIDAL	Tween
Tégréto® NOVARTIS	

*La préparation des solutions correspondantes est détaillée en annexe.*

## II.1.3. METHODES

Les cinquante souris ont été réparties en 5 lots de 10 souris chacun :

- un lot témoin(T) ;
- un lot essai 1 (E1), traité avec le Neurolal® ;
- un lot essai2(E2), traité avec la Neurozepine® ;
- un lot essai 3(E3), traité avec le Gardéna® ;
- un lot essai4 (E4), traité avec le Tégréto®.

(Tableau I)

Les produits à tester ont été administrés *per os* par gavage.

### II.1.3.1. Modalités et réalisation du gavage

Le volume de 0.5 ml est le volume idéal qui peut être toléré par l'estomac d'une souris. Ce volume a été administré à l'aide d'une sonde de gavage, qui a été introduite délicatement à l'intérieur de l'œsophage de la souris (voir figure).

Tableau I : Traitements administrés aux cinq lots expérimentaux lors du test d'efficacité

LOTS	TRAITEMENTS ADMINISTRES
Témoin	Eau distillée dans un volume de 0.5 ml par souris.
Essai I	10 mg par kg de Neurolal® dans un volume de 0.5 ml par souris.
Essai II	10 mg par kg de Gardénal® dans un volume de 0.5 ml par souris.
Essai III	50 mg de Neurozepine® dans un volume de 0.5 ml par souris.
Essai IV	50 mg de Tégrétol® dans un volume de 0.5 ml par souris.

### II.1.3.2. Réalisation de l'électrochoc

Dans les 5 à 60 minutes après l'administration du produit à tester les souris sont choquées selon le protocole suivant :

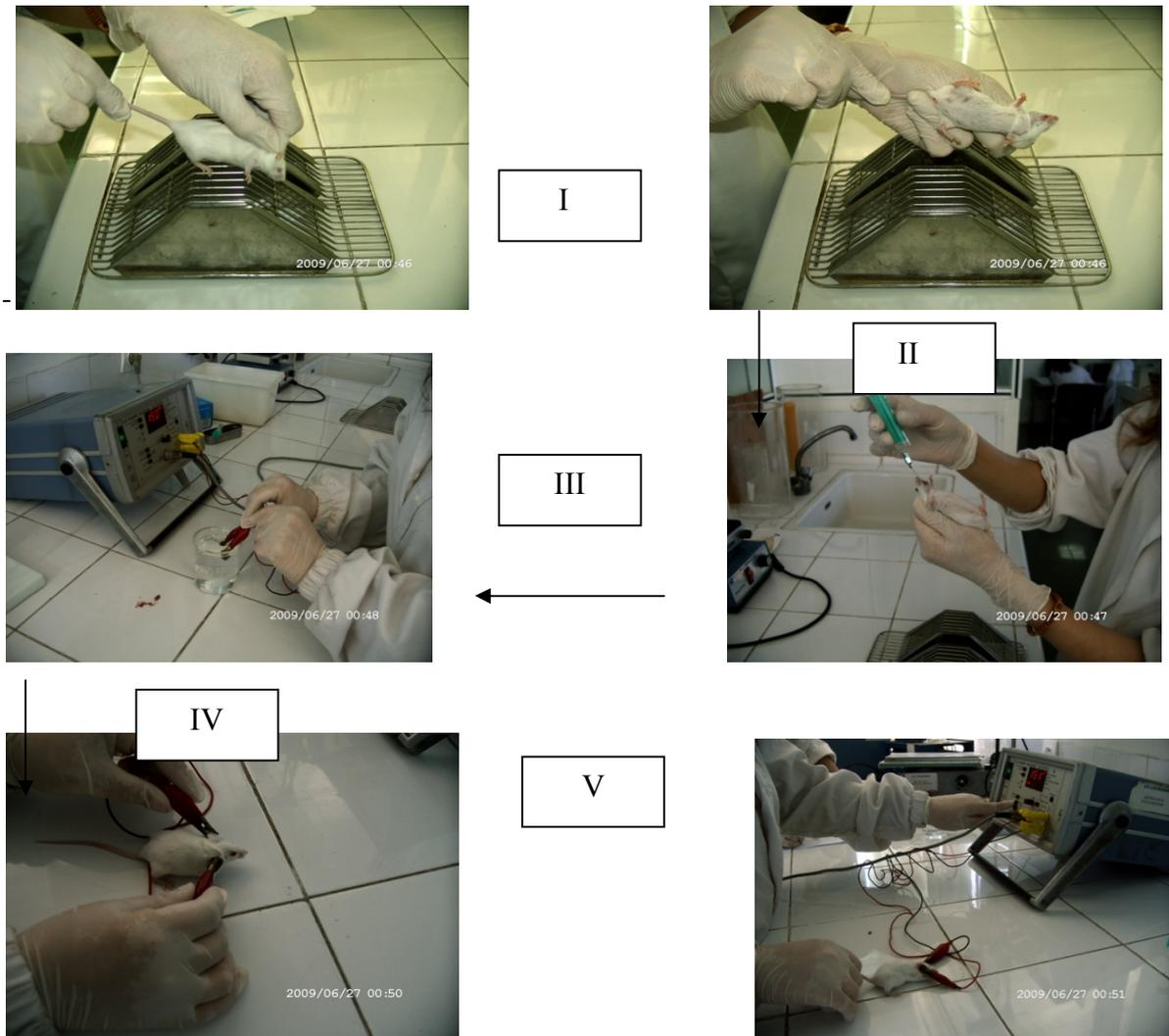
Après avoir revêtu des gants isolants, les pinces des électrodes humectées d'eau physiologiques ont été placées sur les oreilles des souris et un choc électrique de 10 mA a été appliqué pendant 0.2 secondes, afin d'obtenir des crises tonico-cloniques (Figure 1).

Le comportement des souris a été ensuite observé pendant 2 minutes et les manifestations de crises : cloniques et/ou toniques ont été notées pour chacune des souris.

Après 60 minutes d'administration des produits à tester, les signes cliniques suivants sont recherchés :

- La diminution de l'activité locomotrice et du thigmotaxis ;
- La diminution de redressement ;
- L'absence de toilettage ;
- Somnolence ;

- Une diminution de la défécation.



I – Contention de la souris

II- Administration par gavage gastrique différentes doses des produits aux souris

III- Immerger les pinces au préalable dans l'eau physiologique conductrice

IV- Mettre des pinces à la base des oreilles de la souris

V- Stimulation durant 3 secondes à l'aide d'un courant électrique (1 à 20 mA)

Figure1 : Différentes étapes de réalisation de l'électrochoc (Photos personnelles)

## II.2. ETUDE DE LA TOXICITE SUBAIGUE

### II.2.1. ANIMAUX

Vingt quatre (24) rats mâles, adultes, de souche Wistar, âgé de 16 semaines (Elevage CRD, SAIDAL) ont été utilisés afin d'éliminer les effets liés à l'âge, au sexe, aux variations hormonales, stade physiologique ; gestation, maladie ...

Après un temps d'adaptation de 10 jours, les rats ont été répartis aléatoirement en 3 lots de 8 sujets chacun et recevaient une alimentation et un abreuvement *ad libitum*.

Les rats étaient isolés en cage ; dans une animalerie standard présentant une humidité de 55 à 60 %, une température contrôlée de  $21^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  et une photopériode de 12 heures.

Les rats ont été mis à jeun 18 heures avant la réalisation du test.

### II.2.2. MATERIELS

#### II.2.2.1. Petits matériels et instruments

Petits matériels et consommables	Instruments
Micropipettes 10 $\mu\text{l}$ , 50 $\mu\text{l}$ , 100 $\mu\text{l}$ , 1000 $\mu\text{l}$	Spectrophotomètre
Tubes à essais héparinés, citraté et EDTA	Automate d'hématologie
Tubes capillaires héparinés	Balance analytique
Sonde de gavage pour rat	Balance d'animaux
Cristallisoir	Centrifugeuse
Eppendorfs	Agitateur
Seringues de 5 ml	Bain-marie
Mortiers et pilons	Etuve

#### II.2.2.2. Produits chimiques et réactifs

Produits chimiques	Réactifs
Neurolal® SAIDAL 100mg	Tween 80
Gardéнал® SANOFI-AVENTIS 100mg	Eau physiologique 0,9 %.
	Eau distillée
	Réactifs de dosage des paramètres biochimiques (glucose, urée, créatinine, cholestérol, triglycéride)

### II.2.3. METHODES

Les vingt quatre rats ont été répartis en trois lots de huit rats selon le schéma expérimental suivant :

- un lot témoin (T) ;
- un lot essai 1 (E1), traité avec le Neurolal® ;
- un lot essai 3(E2), traité avec le Gardéнал®.

Une dose sub-thérapeutique des produits testés a été ainsi administrée quotidiennement aux rats des lots E1 et E2 pendant une période de deux semaines (Tableau II).

Tableau II: Traitements administrés aux trois lots expérimentaux lors du test de toxicité

LOTS	TRAITEMENTS ADMINISTRES
Témoin	Administration quotidienne de 2ml de la solution véhicule (Eau distillée) à chaque rat pendant 14jours
Essai 1	Administration quotidienne de 8 mg par kg de Neurolal® par voie orale dans un volume de 2 ml à chaque rat pendant 14jours
Essai 2	Administration quotidienne de 8 mg par kg de Gardéнал® par voie orale dans un volume de 2 ml à chaque rat pendant 14jours

*La préparation des solutions correspondantes est détaillée en annexe.*

Pendant toute la durée de l'expérimentation, les animaux ont été mis en observation afin de déceler toutes manifestations éventuelles de toxicité consécutive à l'accumulation du produit dans l'organisme.

Outre une observation minutieuse du comportement, les mesures et examens suivants ont été réalisés :

- ❖ Etude de l'évolution pondérale ;
- ❖ Examens hématologiques et biochimiques
- ❖ Autopsie

La pesée des animaux a été faite au 1<sup>er</sup>, au 7<sup>e</sup> au 14<sup>e</sup> jour du traitement.

Trois prélèvements sanguins de 4 ml ont été effectués à J1, J7 et J14 soit un total de 72 prélèvements.

Un volume de 1 ml est prélevé sur tube EDTA en vue de l'étude des paramètres hématologiques et un volume de 3 ml est recueilli sur tube sec ou hépariné afin de réaliser les l'analyse de différents paramètres biochimiques (Tableau III)

Tableau III : Paramètres hématologiques et biochimiques étudiés lors du test de toxicité

PARAMETRES HEMATOLOGIQUES	PARAMETRES BIOCHIMIQUES
Numérations des globules blancs	Dosage de la glycémie
Numération des globules rouges	Dosage de l'urée
Détermination du taux d'hématocrite	Dosage de la créatinine
Détermination du taux d'hémoglobine	Dosage des triglycérides
Numérations des globules blancs	Dosage du cholestérol

*Les paramètres hématologiques ont été mesurés par un automate d'hématologie.*

*Les protocoles de dosage des paramètres biochimiques ont été détaillés en annexe.*

### III. RESULTATS

#### III.1. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTI-CONVULSIVANTE

##### III.1.1. MOLECULES BARBITURIQUES GARDENAL® ET NEUROLAL®

L'évaluation de l'activité anti-convulsivante par le test de l'électrochoc des deux barbituriques : le Gardénal® (produit de référence) et le Neurolal® (produit générique), a permis de mettre en évidence : une réduction de 60% et 70 % des crises toniques chez les souris traitées respectivement avec le Neurolal® et le Gardénal® et de 70 % des crises cloniques par rapport aux souris du lot témoin (Tableau IV et Figure 2).

Tableau IV: Moyennes et Pourcentages de réduction des crises convulsives après traitement par le Gardénal® et le Neurolal®

Lots	Moyenne des crises toniques	PR (%)	Moyenne des crises cloniques	PR (%)
Témoin	1	0	1	0
Essai I (Neurolal®)	0,3	70	0,3	70
Essai II (Gardénal®)	0,4	60	0,3	70

*Les résultats détaillés sont présentés en annexe.*

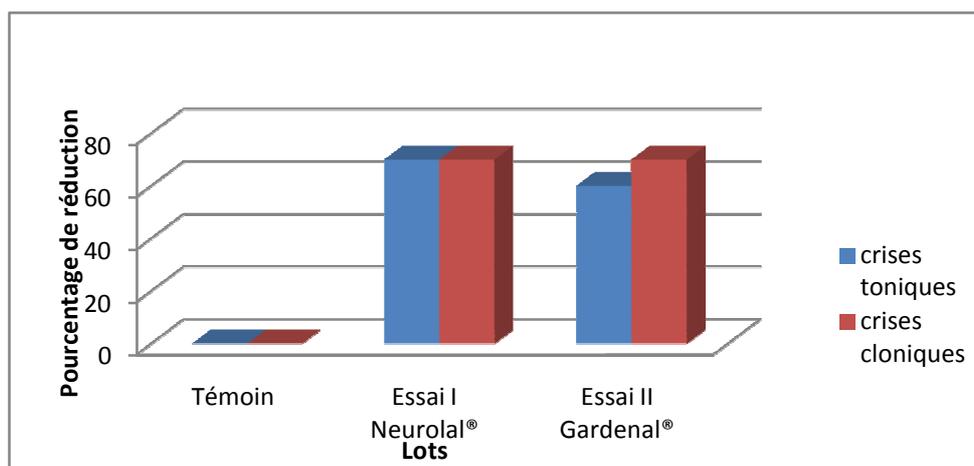


Figure 2 : Activité anticonvulsivante du Gardénal® et du Neurolal®

La différence observée entre les effets anticonvulsivants des deux barbituriques était non significative (l'analyse des moyenne par le test de Student n'a montré aucune différence significative des moyennes au seuil de 5 %)

##### III.1.2. MOLECULES NON BARBITURIQUES NEUROZEPINE® ET TEGRETOL®

L'évaluation de l'activité anti-convulsivante par le test de l'électrochoc des deux produits non barbituriques : le Tégrétol® (produit de référence) et la Neurozepine® (produit générique), a permis de mettre en évidence : une réduction de 70 % des crises toniques chez les souris traitées le Tégrétol® et la Neurozepine® et de respectivement 80 % et 60 % des crises cloniques par rapport aux souris du lot témoin (Tableau V et Figure 3).

Tableau V: Moyennes et Pourcentages de réduction des crises convulsives après traitement par le Tégrétol® et la Neurozepine®

Lots	Moyenne des crises toniques	PR (%)	Moyenne des crises cloniques	PR (%)
Témoin	1	0 %	1	0%
Essai III (Neurozepine®)	0,3	70	0,4	60
Essai IV (Tégrétol®)	0,3	70	0,2	80

Les résultats détaillés sont présentés en annexe.

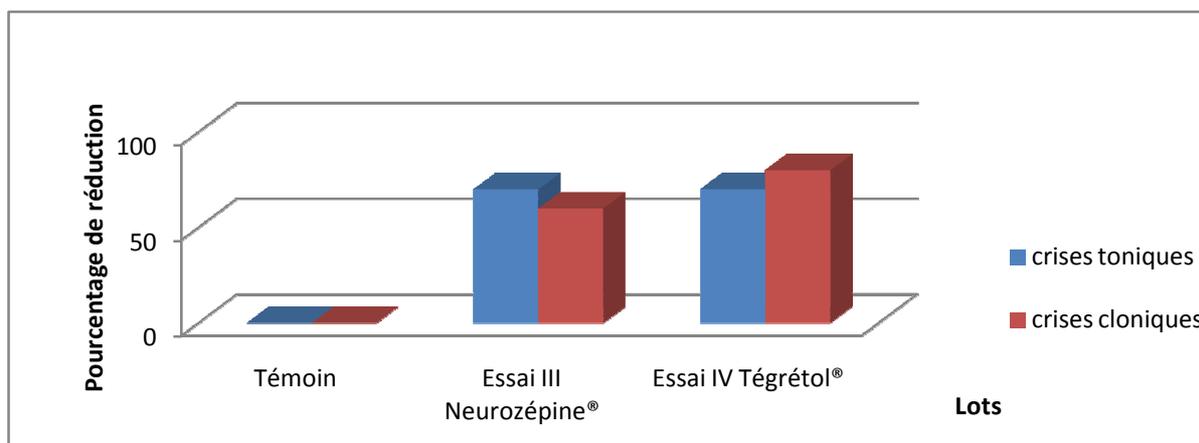


Figure 3: Activité anticonvulsivante de la Neurozepine® et du Tegretol®.

La différence observée entre les effets anticonvulsivants des deux médicaments non barbituriques testés était non significative (l'analyse des moyenne par le test de Student n'a montré aucune différence significative des moyennes au seuil de 5 %)

## III.2. ETUDE DE TOXICITE SUBAIGUE

### III.2.1. OBSERVATION CLINIQUE

#### III.2.1. Manifestations cliniques

Aucun signe clinique ou comportemental n'a été relevé chez les animaux traités au cours de notre protocole expérimental.

#### III.2.2. Mortalité

Aucune mortalité n'a été rapportée que ce soit dans le lot témoin ou les lots traités durant les 14 jours de l'expérimentation.

### III.2.3. Evolution pondérale

Le poids corporel des rats traités est resté comparables à celui des rats témoins pendant les deux semaines d'expérimentation (Tableau VI et Figure 4).

Tableau VI: Evolution pondérale des rats témoins versus rats traités

	Lot Témoin	Lot Essai I	Lot Essai II
J 0	248,25 ± 7,09	248,00 ± 6,02	250,63 ± 2,13
J 7	253,88 ± 3,76	250,38 ± 2,67	255,00 ± 2,27
J 14	259,75 ± 5,90	251,88 ± 2,75	256,75 ± 2,60

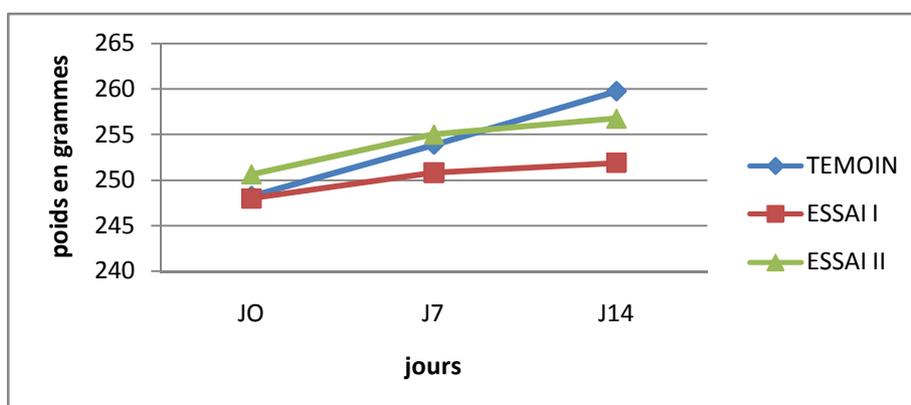


Figure 4: Evolution pondérale des rats témoins et des rats traités.

### III.2.4. Etude des paramètres biochimiques

Les tableaux suivants résument les résultats de l'étude de l'évolution des paramètres biochimiques après administration de Neurolal® et Gardénal® pendant 14 jours.

Les résultats détaillés sont repris en annexe.

Tableau VII: Moyennes des valeurs de la glycémie (g/l) des rats des lots témoin et traités.

Temps (j)	Lot Témoin	Lot Essai I	Lot Essai II
J 0	0,84 ± 0,07	0,81 ± 0,03	0,85 ± 0,02
J 7	0,80 ± 0,02	1,00 ± 0,05	0,88 ± 0,03
J 14	0,77 ± 0,02	0,98 ± 0,08	0,87 ± 0,02

Tableau VIII: Valeurs moyennes de la cholestérolémie (g/l) des rats des lots témoin et traités.

Temps (j)	Lot Témoin	Lot Essai I	Lot Essai II
J 0	0,68 ± 0,04	0,70 ± 0,08	0,70± 0,06
J 7	0,67 ± 0,04	0,82 ± 0,14	0,85 ± 0,23
J 14	0,66 ± 0,03	0,77± 0,12	0,80 ± 0,07

Tableau IX: Valeurs moyennes des triglycérides (g/l) des rats des lots témoin et traités.

Temps (j)	Lot Témoin	Lot Essai I	Lot Essai II
J 0	0,53 ± 0,08	0,53 ± 0,10	0,58 ± 0,11
J 7	0,52 ± 0,07	0,59 ± 0,12	0,68 ± 0,12
J 14	0,50 ± 0,02	0,58 ± 0,14	0,62 ±0,08

Tableau X : Valeurs moyennes de la créatinine (mg/l) des rats des lots témoin et traités.

Temps (j)	Lot Témoin	Lot Essai I	Lot Essai II
J 0	7,5 ± 2,2	9,6 ±3 ,2	7,5 ±2,0
J 7	8,3 ±2,2	11,6 ±2,3	8,5 ± 2,1
J 14	9,6 ±3,6	11,0±3,3	10,9 ±3,3

Tableau XI : Valeurs moyennes de la concentration de l'urée en (g/l)  
des rats des lots témoin et traités.

Temps (j)	Lot Témoin	Lot Essai I	Lot Essai II
J 0	0,52 ±0,03	0,47 ± 0,03	0,46 ± 0,08
J 7	0,51 ±0,054	0,49 ±0,038	0,48 ±0,054
J 14	0,53±0,029	0,50 ±0,033	0,49 ±0,063

L'étude des différents paramètres biochimiques a montré de légères différences significatives (avec le test de student au seuil de 5%) avant et après traitement pour les deux lots essais, mais ces derniers restent dans les normes.

### III.2.5. Etude des paramètres hématologiques

Les tableaux suivants résument les résultats de l'étude de l'évolution des paramètres hématologiques après administration de Neurolal® et Gardénal® pendant 14 jours.

Les résultats détaillés sont repris en annexe.

Tableau XII: Valeurs moyennes de la concentration d'hémoglobine en (g/dl)  
des rats témoins et des rats traités.

Temps (j)	Lot Témoin	Lot Essai I	Lot Essai II
J 0	14,74 ± 0,28	14,6 ± 0,37	14,94 ± 0,29
J 7	15,15 ± 0,41	15,47 ± 0,17	14,38 ± 1,02
J 14	14,90 ± 0,28	15,15 ± 0,48	14,67 ± 1,26

Tableau XIII : Valeurs moyennes des globules blancs des rats des lots témoin et traités.

Temps (j)	Lot témoin	Lot essai I	Lot essai II
J 0	8,15 ± 0,77	8,31 ± 0,81	8,39 ± 0,96
J 7	7,10 ± 0,66	7,80 ± 0,72	6,37 ± 1,15
J 14	7,85 ± 0,85	7,48 ± 1,02	7,47 ± 1,47

Tableau XIV: Valeurs moyennes des globules rouges des rats témoins et des rats traités.

Temps (j)	Lot témoin	Lot essai I	Lot essai II
-----------	------------	-------------	--------------

J 0	7,67 ± 0,46	7,75 ± 0,91	7,54 ± 0,32
J 7	7,68 ± 0,29	7,58 ± 0,48	7,82 ± 0,59
J 14	7,57 ± 0,38	7,59 ± 0,25	7,35 ± 0,37

Tableau XV: Valeurs moyennes de l'hématocrite des rats des lots témoin et traités.

Temps (j)	Lot Témoin	Lot Essai I	Lot Essai II
J 0	42,42 ± 0,84	41,88 ± 1,54	42,24 ± 1,10
J 7	44,04 ± 1,43	45,94 ± 0,90	40,60 ± 1,07
J 14	44,51 ± 1,27	44,82 ± 1,05	42,63 ± 3,16

L'étude des différents paramètres hématologiques a montré de légères différences entre les trois lots, mais ces dernières sont restées comparables à celles du lot témoin et dans les normes physiologiques admises.

Ces différences étaient statistiquement non significatives (test d'analyse de variance au seuil de 5%).

## IV. DISCUSSION & CONCLUSION

La sécurité et l'efficacité d'un médicament doivent être définies avant sa commercialisation. Outre les études *in vitro*, la plupart des effets biologiques de la molécule médicamenteuse se doit d'être caractérisée chez l'animal avant de débiter les essais cliniques chez l'espèce cible. Dans notre pays, l'autorisation de mise sur le marché de médicament vétérinaire s'appuie exclusivement sur les résultats des études réalisées à l'étranger. Pratiquement seules les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques sont vérifiées, l'innocuité et l'efficacité du médicament sont en revanche rarement contrôlées.

Ce présent travail avait pour premier objectif, l'évaluation de l'efficacité et de l'innocuité d'une molécule thérapeutique et plus particulièrement celles de médicaments anticonvulsivants. Le second objectif a été de mener une étude d'efficacité et de toxicité comparative entre des médicaments anticonvulsivants « princeps » : le Gardéнал® et le Tégrétol® et « génériques » : le Neurolal® et la Neurozepine®.

L'étude d'efficacité a été réalisée à la dose de 10 mg/kg conformément aux travaux antérieurs de Chapman et al (1982). Cette dose correspond à la dose efficace médiane qui réduit les crises convulsives expérimentales de 50%. (DE50).

Aucune différence significative n'a été constatée entre le Neurolal® (générique SAIDAL) et le Gardéнал® (produit de référence AVENTIS). Les deux produits ont ainsi réduit l'extension tonique des membres postérieurs des souris de plus de 50%, confirmant l'efficacité du phénobarbital dans la plus part des crises convulsives expérimentales (*Tadman et al, 1996*). Notre étude a permis de montrer une efficacité équivalente du générique par rapport à la molécule mère.

Une efficacité anticonvulsivante similaire a été obtenue avec la Neurozepine® (générique SAIDAL) et le Tégrétol® (produit de référence Novartis). Les deux médicaments ont réduit les crises toniques de plus de 50% chez les animaux testés (70% pour les deux produits). Ces résultats sont en adéquation avec les données de la littérature concernant l'efficacité de la carbamazépine sur les convulsions provoquées chez des rongeurs, par la stimulation électrique (*Theobald et Kunz, 1963; Koella et al, 1976; Stanistaw et Czuczwar, 2005*).

L'étude toxicologique réalisée sur des rats males, adultes ; de souche Wistar a été basée sur l'exploration de paramètres hématologiques et biochimiques après administration sub-chronique des deux barbituriques le Neurolal<sup>®</sup>, et le Gardéнал<sup>®</sup> à la dose de de 8mg/kg pendant 14 jours.

Aucune manifestation classique d'intoxication (adynamie, amaigrissement, diarrhée) n'a été rapportée quel que soit le groupe traité.

Cette étude n'a relevé non plus aucune modification du poids corporel des rats. Bien que des études précédentes aient rapportées qu'une prise de poids était l'un des effets secondaires du traitement à long terme du phénobarbital (*Bollinger et Kline, 2000 in Frontini, 2006*).

L'étude des paramètres hématologiques et biochimiques (formule sanguine, glycémie, urée, créatinine, cholestérol, triglycéride) n'a montré non plus aucune modification notable par rapport au lot témoins.

Bien que ces résultats montrent l'absence d'effets toxiques chez les sujets traités, ces résultats doivent être complétés par une étude de toxicité chronique avant de conclure définitivement à son innocuité. En effet, la prise en charge thérapeutique des crises convulsives implique la prise à vie de ces molécules anticonvulsivantes, entraînant fréquemment une augmentation de la cholestérolémie et de l'albuminémie (*Muller, 2000*). Notre étude aurait également été parachevée par l'exploration de certaines enzymes hépatiques (PAL, ALAT, GGT), souvent augmentées au cours de ce type de traitement (*Muller, 2000*).

Malheureusement des contraintes d'ordre technique et inhérentes au calendrier universitaire ne nous ont pas permis de réaliser ces explorations et, de poursuivre notre étude au delà de deux semaines consécutives.

En conclusion, notre étude a permis de démontrer une efficacité équivalente des molécules génériques SAIDAL le Neurolal® et la Neurozepine® versus Gardénal® et Tégrétol® (produit de référence) et de confirmer l'innocuité à moyen terme de ces molécules.

L'usage de médicaments génériques à l'efficacité équivalente, faciliterait grandement l'accès au traitement des animaux souffrants de crises convulsives (premier motif de consultation neurologique chez l'espèce canine) dans la mesure où le traitement par les médicaments princeps reste à ce jour extrêmement onéreux et constitue souvent une entrave majeure à la prise en charge thérapeutique des patients.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANONYME., 2006.** Larousse médical .France. Ed .Larousse. Nouvelle édition .page 238.
- AUZEPY, PH., MANIGAND, G., 1990.**Accidents des médicaments.France .Ed .Ellipses .page 186.
- BIEDER, G .R.E., 2001.**Le traitement de l'épilepsie chez le chat .Thèse de doctorat en science vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse .pages 13, 14, 15, 46,47.
- BOUVENOT, G., VRAY, M., 2006.**Essais cliniques. Paris.Ed.flammarion.4ème Ed. p1, 2,3, 4.
- COHEN, Y., JACQUOT, C., 2008.**Abrégé de pharmacologie .Ed .Elsevier Masson . France.6ème Ed. France .pages 92, 93, 95, 97,98.
- DIARD, P., 2004** Traitement de l'épilepsie essentielle canine au phénobarbital : étude clinique de ses effets sur la concentration sérique des hormones thyroïdiennes chez les chiens golden et labrador retrievers .Thèse de doctorat en science vétérinaire. Université Claude-Bernard-Lyon I. Pages 26, 39, 73.<http://www.vet-lyon.fr> .Consulté le 16 juin 2009.
- FRONTINI, A., 2006.** Création d'un site internet à destination des propriétaires de carnivores atteints d'épilepsie primaire. Thèse de doctorat en science vétérinaire.ENV Alfort. Pages 9, 10, 15,16.<http://theses.vet-alfort.fr> .visité le 14juin 2009.
- HOVIN, G., 1990.** Pharmacocinétique .Frnce.Ed. ellipses .p251 ,252.
- HUGUET, I.D., 1988.**Contribution au diagnostic étiologique de l'épilepsie des carnivores domestiques l'examen tomодensitométrique. Thèse de doctorat en science vétérinaire. ENV Alfort. Pages 29, 30.
- KATZUNG, B., G., 2006.** Pharmacologie fondamentale et clinique .Ed .Piccin .9ème éd .Italie .p65, 66,69.
- MORAILLON, R., 1998.**Syndromes convulsifs des carnivores. 7p. Encyclopédie vétérinaire neurologie 0600.vol.5 Pages 1, 2, 3, 5,6.
- MORAILLON, R., LEGEAY, Y., BOUSSARIE, D., 2007.**Dictionnaire pratique de thérapeutique chien, chat et nac. Ed. Elsevier. Masson .France .6ème Ed .pages 145-146.
- NEAL, M., 2003.**Pharmacologie médicale .Bruxelle-Belgique.Ed .de Boeck .2ème Ed .p105.
- SCHEAR, M. ,2006 .** Médecine clinique du chien et du chat. France.Ed .Masson .page 505.

**SCHMITT, H., 1980.**Elément de pharmacologie .France.Ed .Flammarion, 7ème éd .N °9390 .P 301.

**SPRIET, A., 1997.**Aspects méthodologiques des essais d'antiépileptiques .La lettre du pharmacologue.vol .11, 12,17. <http://agmed.sante.gouv.fr/htm/10/iam/indiam.htm>

**TALBERT, M., WILLOQUET, G., GERVAIS, R., 2006.**Guide pharmaco. Italie.Ed .Lamarre . Pages 7, 8, 850,855 ,856 .

**THOMAS, P., 2004.**Traitement médical des épilepsies : EMC.

**TOUITOU, Y., 2007.**Pharmacologie .Ed .Masson. France.11ème éd . page 355.

**VILLE, P.G. ,2005.**Les crises convulsives chez le chat : diagnostic étiologique et traitement. Thèse de doctorat en science vétérinaire ENVA (Alfort).Pages 9 ,18.<http://theses.vet-alfort.fr> .Consulté le 14juin 2009.

# Revue bibliographique

---

# I. LES CRISES CONVULSIVES

## I.1. DÉFINITION

Une crise convulsive peut être définie comme une altération comportementale spontanée ou comme une expérience subjective découlant d'une décharge simultanée excessive d'un ensemble de neurones.

Les crises convulsives aiguës symptomatiques surviennent dans une relation temporelle étroite par rapport à un stimulus, qu'il soit toxique ou d'une autre origine. Il est usuel de faire une distinction entre la notion d'épilepsie, décrivant un phénomène spontané, et les crises convulsives induites notamment par des médicaments, des substances illicites ou des agents de l'environnement.

## I.2. ETIOLOGIE

Les crises convulsives peuvent apparaître suite à des :

- Causes intracrâniennes (lésion structurale) ;
- Causes extra crâniennes (dérèglements de l'homéostasie cellulaire cérébrale et systémique, hypoglycémie ou encéphalose hépatique par exemple).

Si aucune cause intra ou extra crânienne n'a pu être mise en évidence, l'origine sera dite primaire encore appelée idiopathique ou essentielle. (*Cauzinille, 1997 ; in Ville, 2005*) (Tableau I).

Tableau I : Etiologies des crises convulsives

Causes intracrâniennes	Traumatismes, Tumeurs, hydrocéphalie congénitale, lissencéphalie...	
Causes extra crâniennes	<i>Origine métabolique</i> Hypoglycémie, hypocalcémie, affections hépatiques, déséquilibre acido-basique, hypoxie	
	<i>Origine toxique</i> Métaux lourds (plomb), pesticides (strychnine, métaldéhyde, crimidine), éthylène glycol, organochlorés et organophosphorés.	
	<i>Origine infectieuse :</i> virus (maladie de carré, la rage, maladie d'Aujeszky...), bactéries, mycoses (cryptococcose...)	
	<i>Origine parasitaire</i> toxoplasmose	(D' apr ès Mo rail lon, 1992)
Origine primaire ou idiopathique	Epilepsie essentielle	

### I.3. PHYSIOPATHOLOGIE DES CRISES CONVULSIVES

Le déroulement de la crise convulsive, peut être divisé en deux phases successives (*Berent, 2003 ; in Diard, 2004*): une phase compensatoire pendant les 30 premières minutes, et une phase de décompensation ensuite.

#### *Phase compensatoire (0-30 minutes)*

Le cerveau tente de compenser la demande accrue en oxygène et en glucose, en augmentant l'apport sanguin cérébral. La fréquence et le débit cardiaque, de même que la pression artérielle sont augmentés, et on note une élévation des catécholamines circulantes. Ceci provoque une stimulation sympathique qui se traduit par une hyperthermie, une augmentation de sécrétions bronchiques, une hyper salivation et des vomissements. De plus l'hyperactivité musculaire contribue à cette augmentation importante de la température corporelle. Une acidose lactique, apparaît dès le début de la crise, due au métabolisme anaérobie excessif secondaire à l'hyperactivité neuronale et musculaire, à l'augmentation de la glycolyse, à l'hypoxie tissulaire, à la dépression respiratoire et à

la libération de catécholamines. D'autres désordres métaboliques peuvent également être présents : hypoglycémie, hypo ou hyperkaliémie, et hyponatrémie.

*Phase de décompensation (> 30 minutes)*

Les mécanismes mis en place jusqu'alors ne suffisent plus à fournir les besoins métaboliques élevés du cerveau. Le flux sanguin cérébral devient alors dépendant de la pression sanguine systémique, ce qui résulte en une hypotension, une diminution de l'apport sanguin et du métabolisme cérébral entraînant ischémie et mort neuronale. Parallèlement, une hypoxie systémique, une hypertension et un œdème pulmonaire, et des arythmies cardiaques peuvent se développer. Enfin, les dommages hypoxiques cumulatifs affectent tous les organes avec un risque de défaillance multi-organes. L'augmentation de la pression intracrânienne peut entraîner le développement d'un œdème cérébral.

La succession de ces mécanismes physiopathologiques explique l'urgence que représente le développement d'un état de mal chez l'animal comme chez l'homme.

Des déficits neurologiques temporaires, (qui peuvent durer jusqu'à une voire deux semaines) ou permanents peuvent être observés suite à un statut épileptique, même si celui-ci a été contrôlé. Le cortex, notamment dans sa partie visuelle et sensorielle, est très sensible à l'hypoxie (Cauzinille, 2000, Diard, 2004).

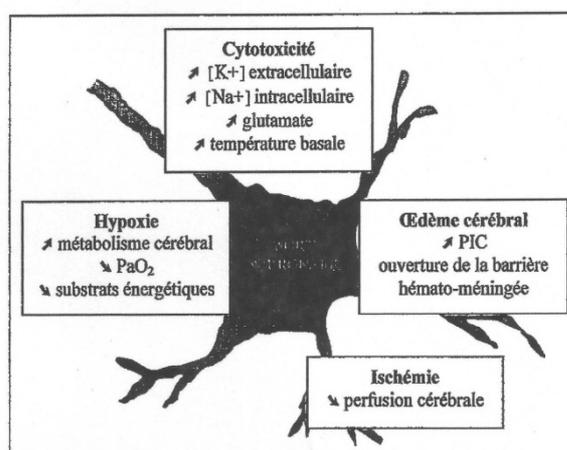


Figure 1: Mécanisme contribuant à la mort cellulaire lors d'une crise convulsive (Podelle, 1996)

---

## I.4. SIGNES CLINIQUES

Les convulsions sont une des anomalies neurologiques les plus rencontrées en médecine vétérinaire; leur compréhension permet d'orienter le diagnostic.

Les convulsions peuvent être classées en deux grands groupes selon leurs manifestations cliniques et électroencéphalographiques lorsque cet examen est disponible : les «crises généralisées» et les «crises partielles».

La classification des crises convulsives est basée sur les signes cliniques et électroencéphalographiques, chez l'homme. Malheureusement, le manque de données électroencéphalographiques chez le chien empêche la réalisation d'une classification aussi précise qu'en humaine.

### I.4.1. CLASSIFICATION DES CRISES CONVULSIVES

Selon que la décharge se produit dans tout le cortex cérébral ou seulement une région de celui-ci, les crises sont dites « généralisées » ou « partielles » (*Anonyme, 2006*).

#### I.4.1.1. Les crises généralisées

Elles se manifestent par des perturbations psychiques, sensorielles et motrices. On peut distinguer :

a. Les crises de grand mal

✓ Phase d'aura

C'est la période prémonitoire, l'animal devient triste, inquiet ou agité ; il change d'attitude. Elle peut durer plusieurs minutes.

✓ Phase tonique

Caractéristique de la crise du grand mal elle débute par une chute brutale sur le sol, l'animal est en décubitus latéral, membres tendus, tête en arrière, colonne vertébrale en hyperextension (opisthotonos), et les mâchoires serrées. Les pupilles sont en mydriase avec les yeux fixés. La respiration est arrêtée (apnée). Cette phase dure 1 à 2 minutes.

---

∨ Phase clonique

Durant cette phase, sont observés : des mouvements de pédalage des membres, nystagmus, des mâchonnements ; des mouvements respiratoires saccadés, une salivation abondante, mousseuse, parfois, émission d'urine de fèces.

Cette phase est peu plus longue que la phase tonique, elle dure environ 3 à 6 minutes. Les contractions cloniques deviennent peu à peu moins fortes et moins nombreuses.

La crise se termine par une :

∨ Phase de stertor

Caractérisée par une respiration bruyante, due à l'encombrement des voies respiratoires supérieures par la salive « respiration stertoreuse ». Puis : un retour au calme est observé. Certaines anomalies comportementales peuvent réapparaître (période de confusion, période de sommeil prolongée).

b. Les crises de petit mal

Caractérisées par une brève perte de conscience (absence) de quelques secondes ; ces pertes sont associées ou non à des phénomènes moteurs mineurs. Le plus souvent ces crises passent inaperçues.

1.4.1.2. Les crises partielles ou localisées

Elles peuvent prendre plusieurs formes :

a. La forme à dominante motrice

Se caractérise par des contractions tonico-cloniques (convulsions), limitées à une région ou des crises giratoires l'animal, qui tourne en rond, puis tombe et perd conscience.

b. La forme à dominante psychique

Dominée par des hallucinations : l'animal paraît impressionné par un objet imaginaire, et essaie par exemple de capturer une mouche.

c. *La forme psychomotrice*

L'animal présente des mouvements de mâchonnement plus ptyalismes ainsi qu'une altération de la conscience.

---

*NB : les crises partielles peuvent être les prodromes d'une crise généralisée : c'est-à-dire qu'elles peuvent se généraliser en quelques minutes, ce qui rend la distinction avec la crise généralisée difficile ; surtout en absence d'observation directe (Morailon, 1998).*

## I.5. DIAGNOSTIC

Bien que le diagnostic des crises convulsives soit en général assez simple, il est impératif de s'assurer que l'on est bien face à ce type de signes cliniques en premier lieu. Le diagnostic de l'épilepsie se fait ensuite par exclusion de toutes les autres causes pouvant donner lieu à des convulsions (Frontini, 2006)

### I.5.1. DIAGNOSTIC ETIOLOGIQUE

Plus complexe, le diagnostic étiologique est souvent difficile ; cependant un bon examen clinique succédant à une anamnèse bien faite, le tout renforcé par quelques examens complémentaires, permettra une bonne approche (Morailon, 1998).

*Les syndromes convulsifs sont fréquents en médecine canine, un peu moins en médecine féline.*

#### I.5.1.1. Anamnèse et commémoratifs

Le dialogue avec le propriétaire est indispensable pour établir le diagnostic des crises convulsives. La plupart du temps le vétérinaire ne voit pas l'animal en crise et doit se référer complètement aux dires du propriétaire. Ainsi il est important d'insister sur le déroulement de la crise, la nature, la durée, l'état de l'animal avant et après la crise. (Fanael-Barett, 1992 in Frontini, 2006).

Selon Shell, l'approche clinique d'un animal qui présente des crises convulsives devrait se faire en trois étapes :

1. Obtention d'une description précise de l'activité de l'animal (niveau de conscience, mouvement involontaires, salivation, miction, défécation, durée des crises, phase d'aura...).
2. Recueil de l'historique (médication en cours, antécédents pathologiques, traumatismes, possible exposition à des toxiques sans oublier le statut vaccinal)
3. Réalisation d'un examen clinique général ainsi qu'un examen neurologique complet. (Shell, 1998 in Ville, 2005)

#### I.5.1.2. Examen clinique (général)

---

Il doit être complet ; avec une attention particulière accordée aux appareils : cardiovasculaire et locomoteur ;

*Appareil cardiovasculaire* : dont certaines anomalies engendrent une insuffisance circulatoire responsable de troubles cérébraux.

*Appareil locomoteur* : développement d'une amyotrophie localisée. (Lapras, et al. 1976 in Huguet, 1988).

#### I.5.1.3. Examen physique et neurologique

Il associera :

- ✓ L'observation des réactions posturales : sautellement, proprioception
- ✓ Un examen de la sensibilité ;
- ✓ Un examen ophthalmique : test du clignement à la menace ; réflexes pupillaires...

Cependant, un examen classique ne permet pas d'exclure une cause intracrânienne (épilepsie essentielle (*Morillon ,1998*)).

---

#### I.5.1.4. Bilan de l'examen clinique

Suite à la réalisation de l'examen clinique de l'animal, il peut être proposé au propriétaire différentes options :

- ✓ Ne pas réaliser plus d'examens: cette attitude est envisageable si aucun déficit neurologique n'a été constaté, si les crises sont d'emblée généralisées et que l'animal est considéré comme normal entre les crises.
- ✓ Réaliser certains examens nécessaires à l'élimination d'une cause métabolique ou d'une cause structurale, en fonction des hypothèses diagnostiques les plus probables.
- ✓ Faire réaliser tous les examens nécessaires pour s'assurer qu'aucune autre affection ne peut expliquer les crises convulsives récidivantes. (Cauzinille, 2000 in Diard, 2004).

#### I.5.2. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL DES CRISES CONVULSIVES

De nombreuses pathologies peuvent être à l'origine de la survenue de crises convulsives. Il est possible d'établir une liste dans le cadre d'un diagnostic différentiel et de les classer selon des facteurs spécifiques comme : l'âge, le sexe, la race, la rapidité d'apparition... (Jones in Schear ,2006).

*L'âge du patient* est un bon critère à l'établissement des hypothèses diagnostic, en effet :

Si le chien a moins d'un an, les causes congénitale, héréditaire, infectieuse, métabolique, toxiques sont privilégiées.

S'il a entre 1 et 3 ans, l'origine génétique (épilepsie essentielle), et toutes les autres causes sont envisageables.

Enfin s'il est âgé de plus de 4 ans, Les troubles métaboliques (hypoglycémies), les troubles cardiovasculaires (arythmie, thromboembolie) ou les tumeurs (primitive ou métastatique) sont des étiologies fréquentes. (Loden et al; 1983 in Huguet.1988).

---

### I.5.3. EXAMENS COMPLEMENTAIRES : (Morillon ,1998)

Les examens complémentaires sont choisis en fonction des hypothèses diagnostiques retenues, de la motivation du propriétaire et du rapport coût/sensibilité/spécificité des examens (Tableau I).

Tableau II : Examens complémentaires

Examens nécessaires	Numération et formule sanguine Urée-créatinine, Calcium, glycémie ; Phosphatase alcaline, transaminases SGPT	
Examens souhaitables	Ponction du liquide céphalo-rachidien (pression, nombre de cellules, taux de protéines) Radiographie du crane, EEG	(D' apr
Examens utiles dans certains cas	Scintigraphie ; Scanner. échographie	ès Mo rail

*lon et al, 2008)*

*Le diagnostic d'épilepsie essentielle reste un diagnostic d'exclusion. (Morillon et al ,2008)*

## II. TRAITEMENT

Plusieurs molécules antiépileptiques sont à la disposition du vétérinaire : elles permettent d'empêcher l'apparition et la propagation des phénomènes électriques anormaux au sein du cortex cérébral, afin de contrôler les crises convulsives.

Le but du traitement est de rendre une vie à peu près normale à l'animal et au propriétaire. (*Thomas, 2000 in Bieder, 2001*).

### II.1. PRINCIPES GENERAUX

Le traitement de la crise est à distinguer du traitement de fond qui durera des années, voire toute la vie de l'animal, car il n'existe pas de traitement curatif (*Touitou, 2007*).

Le traitement a pour objectif la suppression des crises épileptiques, en évitant au maximum les effets indésirables aux patients (*Talber et al. 2008*). Il est inutile de traiter un animal dès la 1<sup>ère</sup> crise et il faut éviter de traiter un animal avant d'établir un diagnostic étiologique, sauf si les crises sont trop fréquentes ou trop graves (*Morailon, 1998*).

Il est fortement conseillé de commencer par une monothérapie, plutôt qu'une polythérapie. (*Thomas, 2000 ; in Bieder, 2001*) et d'instaurer le traitement progressivement, avec un anticonvulsivant choisi selon le syndrome convulsivant. La posologie sera augmentée jusqu'à disparition totale des crises, dans la limite d'une tolérance progressive. En cas d'efficacité insuffisante, il est impératif de changer d'anticonvulsivant en respectant les mêmes règles d'instauration progressive. La bithérapie ne doit être instaurée qu'après échec de plusieurs monothérapies (*Talbert et al, 2008*).

## II.2. DEFINITION DES ANTICONVULSIVANTS

Ce sont des médicaments capables de supprimer ou de diminuer la durée, la fréquence, ou la sévérité des crises convulsives, et les autres manifestations de l'épilepsie (*Talbert et al, 2007*) tout en n'entraînant pas la sédation totale du système nerveux central (*Herve, 1999*). Cette médication est donc suspensive des crises mais non curative (*Cohen, Jacquot, 2008*).

## II.3. CLASSIFICATION DES ANTICONVULSIVANTS

Tableau III : Classification des molécules anti-convulsivantes

Anticonvulsivants de première génération	
Anticonvulsivants barbituriques	Phénobarbital (Aparoxal ®, Gardéнал®) Primidone (Mysoline®)
Anticonvulsivants non barbituriques	Phénytoïne (Di-hydan®) Fosphénytoïne (Prodilantin®) Valproate de sodium (Dépakine®) Carbamazépine (Tégréтол®) Ethosuximide (Zarontin®) Clonazepam (Rivotril®) Diazépam (Valium®)
Anticonvulsivants de deuxième génération	
:	Valpromide (Dépamide®) Felbamate (Taloxa®) Progamide (Gabréne®) Vigabatrin (Sabril®) Lamotrigine (Lamictal®) Gabapentine (Neurotin®) Tiagabine (Gabitril®) Topiramate (Eptomax®)

(D'après Spriet et al, 1997)

## II.4. MODE D'ACTION DES ANTICONVULSIVANTS

Les anticonvulsivants sont des molécules permettant de stabiliser les membranes neuronales et de diminuer la propagation de l'excitabilité menant à des convulsions. Cela est permis, soit par une diminution de la conductivité ionique et de l'hyperpolarisation des membranes, soit indirectement par potentialisation de l'activité des neurotransmetteurs inhibiteurs comme le GABA (*Dyer et Shell, 1993 ; in Frontini ; 2006*).

## II.5. EFFETS INDESIRABLES DES ANTICONVULSIVANTS

La toxicité potentielle des différents médicaments utilisés est un souci constant lors du suivi des patients. (AUZEPY ET MANIGAND ; 1990), ainsi la surveillance du traitement est cruciale car un même médicament contrôle certains types de crises mais peut en aggraver d'autres (*Touitou, 2007*)

Certaines réactions sont en rapport avec l'activité pharmacologique du produit ; elles peuvent être le résultat d'un surdosage à l'occasion d'un excès d'absorption, d'un défaut d'élimination ou fait essentiel, d'interactions métaboliques entre différents médicaments pris conjointement (*Auzepy et Manigand, 1990*)

Ces effets indésirables peuvent être précoces ou d'apparition plus tardive et concernent aussi bien le système nerveux central que le système gastro-intestinal, cutané ou d'autres.

## II.6. LE PHENOBARBITAL & LA CARBAMAZEPINE

Dans le cadre de ce travail, nous détaillerons particulièrement deux molécules anticonvulsivantes : le phénobarbital (barbiturique) et la carbamazépine (non barbiturique) qui ont fait l'objet de notre travail expérimental.

### II.6.1. LE PHENOBARBITAL

#### II.6.1.1 Dénomination

*Dénomination commune internationale : Phénobarbital*

*Nom commercial : Gardéna®*

#### III.6.1.2. Formule et forme pharmaceutique

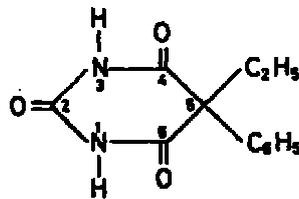


Figure2: Formule du phénobarbital (*Cohen et Jacquot, 2008*)

Le phénobarbital est une molécule dont l'activité anticonvulsivante est potentialisée par la présence d'un groupement phényle en position 5. (*Mc Namara, 1996 in Bieder, 2001*).

*Forme pharmaceutique : orale et injectable*

#### II.6.1.3. Posologie

Chez le chat : 1,5 à 2,5 mg/kg 2 fois /jour

Chez le chien : 2 à 3 mg/Kg/2 fois/jour.

(*Morillon, 1998*)

#### II.6.1.4. Pharmacocinétique

##### *a. Absorption*

Le phénobarbital est un acide faible, il est donc bien absorbé par le tube digestif après une administration orale : sa biodisponibilité orale est de 85 à 95% (*Boothe, 1996 in Diard, 2004*).

La concentration plasmatique maximale est obtenue en 4 à 8 heures après prise orale (*Moraillon, 1998*). Sa demi-vie est de 48 à 72 heures et l'équilibre thérapeutique est obtenu en 2 semaines.

##### *b. Distribution*

Le phénobarbital se fixe à 45% sur les protéines plasmatiques. (*Boothe, 1996 in Diard, 2004*). La concentration plasmatique d'équilibre n'est atteinte que très lentement : 10 à 15 jours.

Les variations du PH sanguin modifient les rapports de concentration entre formes ionisées et non ionisées et modifient le transfert du plasma vers les tissus.

Le phénobarbital diffuse dans tout l'organisme, notamment dans le cerveau, en raison de sa liposolubilité (*Schmitt, 1980*).

##### *c. Biotransformation*

Le phénobarbital est pour 80%, métabolisé en dérivé p-hydroxylé et éliminé sous forme glucuro-conjugué. (*Schmith ; 1980*)

##### *d. Elimination*

Environ 25% de la molécule mère est éliminée par le rein. L'alcalinisation des urines diminue sa réabsorption tubulaire par ionisation de la molécule et donc augmente son excrétion urinaire (*Mc Namara ; 1996, in Bieder, 2001*).

##### *e. Mécanisme d'action*

Le phénobarbital agit en augmentant le seuil épileptogène et en diminuant la propagation des décharges neuronales. Il déprime spécifiquement le centre moteur du cortex cérébral (*Boothe, 1998 in Diard, 2004*).

Le phénobarbital diminue les crises épileptiques en améliorant la réponse à l'effet inhibiteur post-synaptiques du GABA (acide gamma aminobutyrique) par une action sur son récepteur. Il y a

activation des canaux à chlore, ce qui provoque une augmentation intracellulaire de la concentration en chlore et une hyperpolarisation membranaire. (Mc Namara ; 1996, in Bieder ,2001).

Le phénobarbital inhibe aussi l'action du glutamate et probablement le flux de calcium transmembranaire neuronal.

Cette molécule a un effet antiépileptique à des doses inférieures aux doses hypnotiques. (Mc Namara 1996, in Bieder ,2001). La concentration thérapeutique est comprise entre 14 et 45 µg/ml.

Dans cette fenêtre de concentrations, 60% des chiens épileptiques traités voient leurs crises disparaître (Farnbach ,1984 in Frontini ,2006).

#### f. Effets secondaires

La sédation est l'effet secondaire principal du phénobarbital mais elle est surtout présente dans les quelques semaines qui suivent soit la mise en place du traitement, soit l'augmentation des doses. Une hyperexcitabilité ou de l'agitation peuvent également être remarquées notamment dans la première semaine de traitement. La polyurie, la polydipsie, la polyphagie et un gain de poids sont les principaux effets secondaires à long terme (Bollinger et Kline, 2000 in Frontini, 2006)

Une élévation moyenne à modérée des phosphatases alcalines et des autres enzymes hépatiques peuvent également être mises en évidence. Cependant cela n'indique pas forcément une atteinte hépatique sévère. Les hépato-toxicités les plus importantes sont rencontrées dans le cas où les concentrations sériques en phénobarbital sont supérieures à 35µg/ml. Les signes cliniques sont alors l'anorexie, la sédation, l'ataxie, l'ictère et l'ascite (Thomas, 2000 in Frontini, 2006)

## II.6.2. LA CARBAMAZEPINE

### II.6.2.1 Dénomination

*Dénomination commune internationale* : Carbamazépine

*Nom commercial* : Tégréto<sup>®</sup>

### II.6.2.2. Formule et forme pharmaceutique

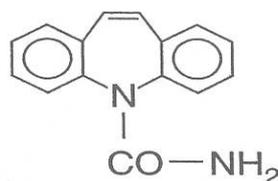


Figure 3: Formule de la carbamazépine (Cohen et Jacquot, 2008)

La carbamazépine n'existe que sous forme orale. (Katzung ,2006).

#### II.6.2.3. Posologie

10 mg/ Kg/ 2 fois par jour. (Morailon *et al* ,2007).

#### II.6.2.4. Pharmacocinétique

##### *a. Absorption*

L'absorption de la carbamazépine est lente et aléatoire car présente une très faible solubilité en milieu aqueux. La biodisponibilité absolue ne peut être évaluée car il n'existe pas de forme intraveineuse (Katzung ,2006).

### *b. Distribution*

La carbamazépine est fortement liée aux protéines plasmatiques (70 à 80%). Elle diffuse rapidement dans l'organisme (*Houin ,1990*).

### c. Biotransformation

La carbamazépine est métabolisée dans le foie (*Neal ,2003*) ; Elle est métabolisée en un métabolite correspondant au dérivé 10-11 époxyde ; ce dernier est stable, actif, et peut être responsable d'effets indésirables. (*Houin ,1990 ; Cohen, 2008*).

Les principales voies métaboliques sont : L'époxydation, l'hydroxylation, et la glucuroconjugaison (*Houin ,1990*).

### d. Élimination

Rénale

### *e. Mécanisme d'action*

La carbamazépine est active sur les convulsions dues au choc électrique maximal. Elle bloque les canaux sodiques et diminue la transmission synaptique en agissant au niveau pré synaptique (*Katzung ,2006*).

### *f. Les effets secondaires*

La carbamazépine est un inducteur enzymatique ; son efficacité peut diminuer au bout d'un certain temps. Le phénomène d'épuisement est dû à sa caractéristique d'auto-induction enzymatique. (*Houin ,1990 ;Auzepy et Manigang , 1990*).

Les principaux effets secondaires sont la sédation, sécheresse de la bouche, vomissement.

## III. EVALUATION DE L'EFFICACITE ET DE LA SECURITE D'UNE MOLECULE THERAPEUTIQUE

Le développement d'un nouveau médicament est long processus semé de nombreux d'obstacles, dont la durée moyenne varie de 7 à 12 ans. A l'issue de cette période, une demande

d'autorisation de mise sur le marché (AMM) est déposée par le laboratoire pharmaceutique aux autorités compétentes de chaque pays.

Le dossier d'AMM comporte trois parties :

Une expertise analytique : où sont répertoriées les caractéristiques physico-chimiques et les méthodes de fabrication et de contrôle.

Une expertise pharmaco-toxicologique : qui comporte les études pharmacologiques et toxicologiques chez l'animal.

Une expertise clinique : correspondant aux études d'activité du médicament chez l'homme ou l'espèce cible, sur son métabolisme sa toxicité éventuelle à court ou long terme.

Ces études se divisent en quatre phases :

- ✓ Phase I : Etude de la sécurité de la molécule thérapeutique (pharmacocinétique).
- ✓ Phase II : Etude de l'activité, son but est de rechercher la dose efficace ; (pharmacodynamie).
- ✓ Phase III : Etude d'efficacité, son but est de démontrer l'efficacité thérapeutique (essais comparatifs) et la tolérance.
- ✓ Phase IV : Etude d'utilité, son but est de mesurer l'efficacité, du bénéfice, du risque dans les conditions usuelles de prescription (pharmacovigilance).

*(Talbert et al, 2007).*

*La sécurité et l'efficacité des médicaments doivent être définies avant qu'ils ne soient commercialisés. Outre les études in vitro, la plupart des effets biologiques de la molécule se doivent d'être caractérisés chez l'animal avant de débiter les essais chez l'homme.*

Nous insisterons dans ce présent travail sur les études menées chez l'animal ;

### III.1. CONDITIONS D'EFFICACITE

Ces conditions sont déterminées par les études pharmacodynamiques et pharmacocinétiques.

#### III.1.1. ETUDES PHARMACODYNAMIQUES

Elles visent à définir l'effet principal du produit ou l'effet thérapeutique, son mécanisme d'action, ses effets secondaires et les doses relatives entraînant l'effet principal et les effets secondaires.

En pratique : la première phase est celle du «screening» qui correspond à l'exécution systématique d'une série de tests qui permettent de mettre en évidence l'activité et la sélectivité du médicament. La deuxième phase comporte souvent, chez différentes espèces animales, des études approfondies précisant l'effet observé chez l'animal sain ou chez l'animal malade.

Ces études sont le plus souvent réalisées chez le rat, le lapin ou le chien.

### III.1.2. ETUDES PHARMACOCINETIQUES

Elles conditionnent les conditions d'absorption, de diffusion et d'élimination du produit, et de son métabolisme dans l'espèce concernée (*Bouvenot etVray, 2006*).

### III.1.3. TESTS SPECIFIQUES AUX ANTICONVULSIVANTS

Les méthodes d'étude consistent à rechercher soit la dose d'antiépileptique qui empêche la crise convulsive électrique, soit la dose qui élève le seuil d'excitation électrique en faisant varier l'intensité et la durée de la stimulation électrique ou chimique (*Cohen et Jacquot, 2008*).

#### Crises convulsives expérimentales

Elles consistent à induire des convulsions : électriquement, chimiquement...

*Excitation électrique* : un électrochoc est pratiqué sur l'animal (rat, lapin, souris...), par stimulation électrique trans-crânienne à l'aide d'électrodes temporales, auriculaires... puis un courant électrique est appliqué ; et l'animal est observé.

*Excitation chimique* : Par administration d'un stimulant bulbaire, le pentétrazol...

*Crise audiogène* : la perception d'un son de longueur d'onde, fréquence et intensité déterminées (sifflet de Galton) provoque des crises convulsives chez la souris et le rat, après un temps de latence de 20 à 30 secondes.

*Foyer épileptogène chronique* : des lésions situées dans le pont, par congélation localisée ou par dépôt stéréotaxique d'alumine, créent un foyer épileptogène chronique.

## III.2. CONDITIONS DE SECURITE

Ces conditions sont définies par les études toxicologiques.

### III.2.1. ETUDES DE TOXICITE AIGUE

Elles visent à déterminer les doses toxiques chez l'animal et les organes souffrant sélectivement de cette toxicité.

Elles sont pratiquées chez deux espèces de mammifères au moins ; avec deux voies d'administration au moins ; une seule administration avec 14 jours d'observation.

Pour chaque condition expérimentale, sont déterminées :

- La dose létale 50 (DL 50), dose maximale tolérée sans mort ;
- La dose létale 100(DL 100), dose minimale pour induire la tous les animaux meurent ;
- Les conditions de la mort (convulsions, mort brutale... et si possible la cause de la mort).

### III.2.2. ETUDE DE TOXICITE SUBAIGUË ET CHRONIQUE

Ce sont des études de toxicité en administration répétée :

Les études sont effectuées sur deux espèces de mammifères, dont l'un n'est pas un rongeur (par exemple le rat ou le chien). Le choix de l'espèce dépend du métabolisme de la substance, qui doit être proche du métabolisme prévisible chez l'espèce cible.

Dans chaque espèce, quatre lots d'animaux sont individualisés : trois d'entre eux reçoivent trois doses différentes du produit et un lot sert de témoin.

Les doses sont déterminées en fonction des données de la toxicité aigue. Il est utile que la dose supérieure fasse apparaitre des effets nocifs.

La voie d'administration est la voie prévue pour l'emploi thérapeutique. L'administration est poursuivie chaque jour, durant 6 mois, un an ou plus. La durée de l'étude dépend de la durée prévisible de la prescription thérapeutique chez l'espèce cible.

La surveillance est clinique, biologique, para-clinique et, à terme, anatomique. Tous les animaux sont sacrifiés. Tous les organes sont systématiquement pesés et étudiés en histologie.

Les diverses données de toxicologie sont interprétées en fonction de l'exposition des animaux à la substance étudiée. Il faudra, par exemple, connaitre avec précision les concentrations plasmatiques d'une substance chimique en fonction des différentes doses administrées, afin d'interpréter les données de toxicologie sur de nombreuses études pharmacocinétiques. (*Bouvenot et Vray, 2006*).

Les objectifs de l'étude de la toxicité subaiguë et chronique sont de mettre en évidence les organes sensibles à l'action toxique du médicament.

Seront également effectuées :

- ✓ Les études sur les effets sur la fonction de reproduction ;
- ✓ L'étude de mutagénèse ;
- ✓ Les études de cancérogénèse.

*(Katzung, 2006)*

Etude expérimentale

## I. OBJECTIFS

Notre étude avait pour principaux objectifs :

1. L'évaluation des propriétés anti convulsivantes de deux médicaments antiépileptiques :
  - Le Neurolal<sup>®</sup>, générique du phénobarbital, produit SAIDAL versus Gardéнал<sup>®</sup> (produit de référence).
  - La Neurozepine<sup>®</sup>, générique de la carbamazépine produit SAIDAL versus Tégréтол<sup>®</sup> (produit de référence).
2. La réalisation d'une étude comparative de la toxicité subaiguë du Neurolal<sup>®</sup> versus Tégréтол<sup>®</sup>.

L'étude s'est déroulée au sein du Laboratoire de Pharmacotoxicologie du Centre de Recherche et Développement (Mohammedia) du groupe SAIDAL.

## II. MATERIELS & METHODES

### II.1. ETUDE DES PROPRIETES ANTI CONVULSIVANTES (TEST DE L'ELECTROCHOC)

#### II.1.1. ANIMAUX

Des souris de souche NMRI (Naval Memorial Research Institute), de sexe male et pesant 20 g ont été réparties aléatoirement en 5 lots de 10 souris chacun.

Les cinquante souris reçurent une alimentation identique à base de granulés (ONAB) et un abreuvement ad libitum.

Les souris étaient hébergées dans une animalerie standard présentant une humidité de 55 à 60 % et une température contrôlée de  $21^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . En outre la durée de l'éclairage était de 12 heures.

Les souris étaient mises à jeun, la veille du test.

## II.1.2. MATERIELS

## II.1.2.1. Pe•ts matériels et instruments

PETITS MATERIELS ET CONSOMMABLES	INSTRUMENTS
Mortier en porcelaine	Balance pour animaux
Sonde de gavage	Appareil a électrochoc « Rodent Shocker »
Cages	
Eprouve•es de 10, 20, 50,100 ml	
Seringues de 1ml, 2ml	

## II.1.2.2. Produits chimiques et réac•fs

Neurolal® SAIDAL	Eau distillée
Gardéna® SANOFI-AVENTIS	Eau physiologique 0,9 %.
Neurozepine® SAIDAL	Tween
Tégréto® NOVARTIS	

La préparation des solutions correspondantes est détaillée en annexe.

## II.1.3. METHODES

Les cinquante souris ont été répar•es en 5 lots de 10 souris chacun :

- un lot témoin(T) ;
- un lot essai 1 (E1), traité avec le Neurolal® ;
- un lot essai2(E2), traité avec la Neurozepine® ;
- un lot essai 3(E3), traité avec le Gardéna® ;
- un lot essai4 (E4), traité avec le Tégréto®.

(Tableau I)

Les produits à tester ont été administrés per os par gavage.

### II.1.3.1. Modalités et réalisation du gavage

Le volume de 0.5 ml est le volume idéal qui peut être toléré par l'estomac d'une souris. Ce volume a été administré à l'aide d'une sonde de gavage, qui a été introduite délicatement à l'intérieur de l'œsophage de la souris (voir figure).

Tableau I : Traitements administrés aux cinq lots expérimentaux lors du test d'efficacité

LOTS	TRAITEMENTS ADMINISTRES
Témoin	Eau distillée dans un volume de 0.5 ml par souris.
Essai I	10 mg par kg de Neuro1al® dans un volume de 0.5 ml par souris.
Essai II	10 mg par kg de Gardénal® dans un volume de 0.5 ml par souris.
Essai III	50 mg de Neurozepine® dans un volume de 0.5 ml par souris.
Essai IV	50 mg de Tégrétol® dans un volume de 0.5 ml par souris.

### II.1.3.2. Réalisation de l'électrochoc

Dans les 5 à 60 minutes après l'administration du produit à tester les souris sont choquées selon le protocole suivant :

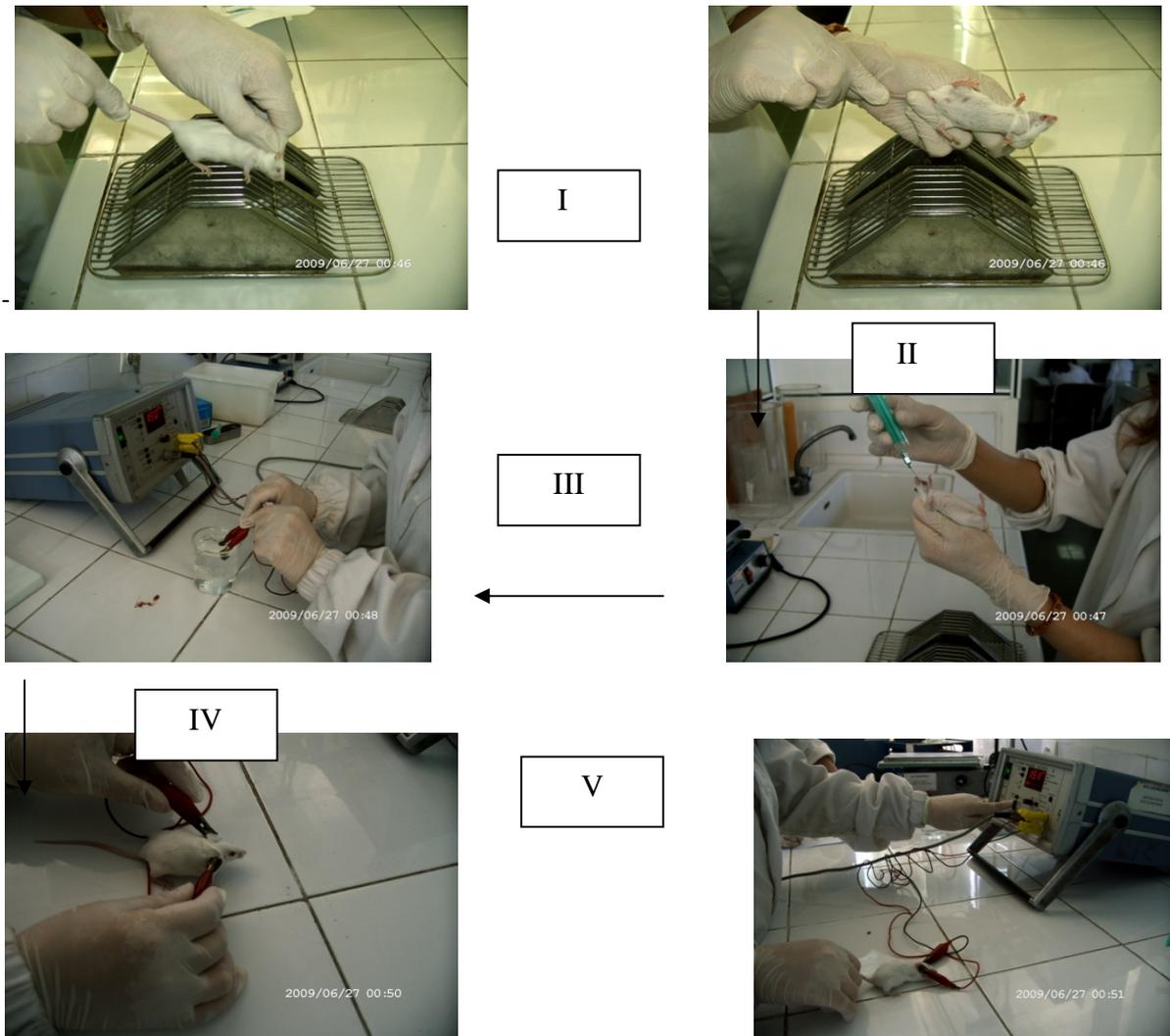
Après avoir revêtu des gants isolants, les pinces des électrodes humectées d'eau physiologiques ont été placées sur les oreilles des souris et un choc électrique de 10 mA a été appliqué pendant 0.2 secondes, afin d'obtenir des crises tonico-cloniques (Figure 1).

Le comportement des souris a été ensuite observé pendant 2 minutes et les manifestations de crises : cloniques et/ou toniques ont été notées pour chacune des souris.

Après 60 minutes d'administration des produits à tester, les signes cliniques suivants sont recherchés :

- La diminution de l'activité locomotrice et du thigmotaxis ;
- La diminution de redressement ;
- L'absence de toilettage ;
- Somnolence ;

- Une diminution de la défécation.



I – Contention de la souris

II- Administration par gavage gastrique différentes doses des produits aux souris

III- Immerger les pinces au préalable dans l'eau physiologique conductrice

IV- Mettre des pinces à la base des oreilles de la souris

V- Stimulation durant 3 secondes à l'aide d'un courant électrique (1 à 20 mA)

Figure1 : Différentes étapes de réalisation de l'électrochoc (Photos personnelles)

## II.2. ETUDE DE LA TOXICITE SUBAIGUE

### II.2.1. ANIMAUX

Vingt quatre (24) rats mâles, adultes, de souche Wistar, âgé de 16 semaines (Elevage CRD, SAIDAL) ont été utilisés afin d'éliminer les effets liés à l'âge, au sexe, aux variations hormonales, stade physiologique ; gestation, maladie ...

Après un temps d'adaptation de 10 jours, les rats ont été répartis aléatoirement en 3 lots de 8 sujets chacun et recevaient une alimentation et un abreuvement ad libitum.

Les rats étaient isolés en cage ; dans une animalerie standard présentant une humidité de 55 à 60 %, une température contrôlée de  $21^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  et une photopériode de 12 heures.

Les rats ont été mis à jeun 18 heures avant la réalisation du test.

### II.2.2. MATERIELS

#### II.2.2.1. Petits matériels et instruments

Petits matériels et consommables	Instruments
Micropipettes 10 $\mu\text{l}$ , 50 $\mu\text{l}$ , 100 $\mu\text{l}$ , 1000 $\mu\text{l}$	Spectrophotomètre
Tubes à essais héparinés, citraté et EDTA	Automate d'hématologie
Tubes capillaires héparinés	Balance analytique
Sonde de gavage pour rat	Balance d'animaux
Cristalliseur	Centrifugeuse
Eppendorfs	Agitateur
Seringues de 5 ml	Bain-marie
Mortiers et pilons	Etuve

#### II.2.2.2. Produits chimiques et réactifs

Produits chimiques	Réactifs
Neurolal® SAIDAL 100mg	Tween 80
Gardéнал® SANOFI-AVENTIS 100mg	Eau physiologique 0,9 %.
	Eau distillée
	Réactifs de dosage des paramètres biochimiques (glucose, urée, créatinine, cholestérol, triglycéride)

### II.2.3. METHODES

Les vingt quatre rats ont été répartis en trois lots de huit rats selon le schéma expérimental suivant :

- un lot témoin (T) ;
- un lot essai 1 (E1), traité avec le Neurolal® ;
- un lot essai 3(E2), traité avec le Gardéнал®.

Une dose sub-thérapeutique des produits testés a été ainsi administrée quotidiennement aux rats des lots E1 et E2 pendant une période de deux semaines (Tableau II).

Tableau II: Traitements administrés aux trois lots expérimentaux lors du test de toxicité

LOTS	TRAITEMENTS ADMINISTRES
Témoin	Administration quotidienne de 2ml de la solution véhicule (Eau distillée) à chaque rat pendant 14jours
Essai 1	Administration quotidienne de 8 mg par kg de Neurolal® par voie orale dans un volume de 2 ml à chaque rat pendant 14jours
Essai 2	Administration quotidienne de 8 mg par kg de Gardéнал® par voie orale dans un volume de 2 ml à chaque rat pendant 14jours

La préparation des solutions correspondantes est détaillée en annexe.

Pendant toute la durée de l'expérimentation, les animaux ont été mis en observation afin de déceler toutes manifestations éventuelles de toxicité consécutive à l'accumulation du produit dans l'organisme.

Outre une observation minutieuse du comportement, les mesures et examens suivants ont été réalisés :

- ✓ Etude de l'évolution pondérale ;
- ✓ Examens hématologiques et biochimiques
- ✓ Autopsie

La pesée des animaux a été faite au 1<sup>er</sup>, au 7<sup>e</sup> au 14<sup>e</sup> jour du traitement.

Trois prélèvements sanguins de 4 ml ont été effectués à J1, J7 et J14 soit un total de 72 prélèvements.

Un volume de 1 ml est prélevé sur tube EDTA en vue de l'étude des paramètres hématologiques et un volume de 3 ml est recueilli sur tube sec ou hépariné afin de réaliser les l'analyse de différents paramètres biochimiques (Tableau III)

Tableau III : Paramètres hématologiques et biochimiques étudiés lors du test de toxicité

PARAMETRES HEMATOLOGIQUES	PARAMETRES BIOCHIMIQUES
Numérations des globules blancs	Dosage de la glycémie
Numération des globules rouges	Dosage de l'urée
Détermination du taux d'hématocrite	Dosage de la créatinine
Détermination du taux d'hémoglobine	Dosage des triglycérides
Numérations des globules blancs	Dosage du cholestérol

*Les paramètres hématologiques ont été mesurés par un automate d'hématologie.*

*Les protocoles de dosage des paramètres biochimiques ont été détaillés en annexe.*

### III. RESULTATS

#### III.1. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTI-CONVULSIVANTE

##### III.1.1. MOLECULES BARBITURIQUES GARDENAL® ET NEUROLAL®

L'évaluation de l'activité anti-convulsivante par le test de l'électrochoc des deux barbituriques : le Gardénal® (produit de référence) et le Neurolal® (produit générique), a permis de mettre en évidence : une réduction de 60% et 70 % des crises toniques chez les souris traitées respectivement avec le Neurolal® et le Gardénal® et de 70 % des crises cloniques par rapport aux souris du lot témoin (Tableau IV et Figure 2).

Tableau IV: Moyennes et Pourcentages de réduction des crises convulsives après traitement par le Gardénal® et le Neurolal®

Lots	Moyenne des crises toniques	PR (%)	Moyenne des crises cloniques	PR (%)
Témoin	1	0	1	0
Essai I (Neurolal®)	0,3	70	0,3	70
Essai II (Gardénal®)	0,4	60	0,3	70

*Les résultats détaillés sont présentés en annexe.*

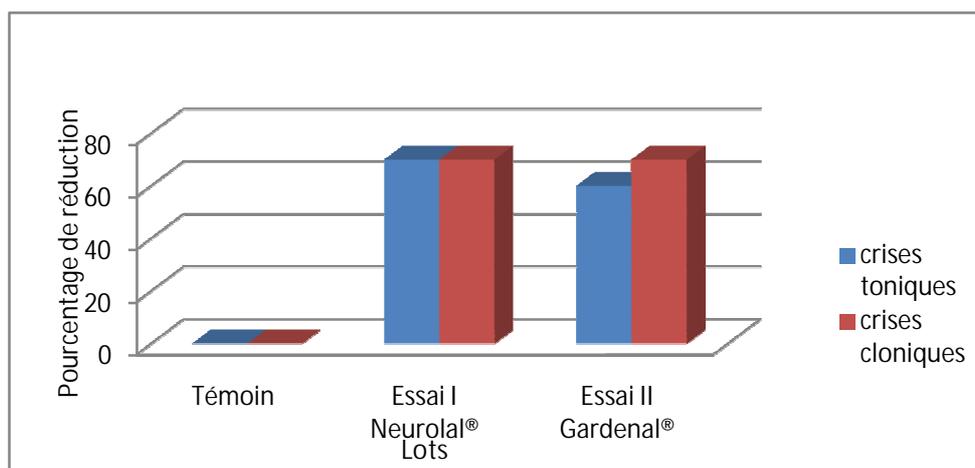


Figure 2 : Activité anticonvulsivante du Gardénal® et du Neurolal®

La différence observée entre les effets anticonvulsivants des deux barbituriques était non significative (l'analyse des moyennes par le test de Student n'a montré aucune différence significative des moyennes au seuil de 5 %)

##### III.1.2. MOLECULES NON BARBITURIQUES NEUROZEPINE® ET TEGRETOL®

L'évaluation de l'activité anti-convulsivante par le test de l'électrochoc des deux produits non barbituriques : le Tégrétol® (produit de référence) et la Neurozépine® (produit générique), a permis de mettre en évidence : une réduction de 70 % des crises toniques chez les souris traitées le Tégrétol® et la Neurozépine® et de respectivement 80 % et 60 % des crises cloniques par rapport aux souris du lot témoin (Tableau V et Figure 3).

Tableau V: Moyennes et Pourcentages de réduction des crises convulsives après traitement par le Tégrétol® et la Neurozépine®

Lots	Moyenne des crises toniques	PR (%)	Moyenne des crises cloniques	PR (%)
Témoin	1	0 %	1	0%
Essai III (Neurozépine®)	0,3	70	0,4	60
Essai IV (Tégrétol®)	0,3	70	0,2	80

Les résultats détaillés sont présentés en annexe.

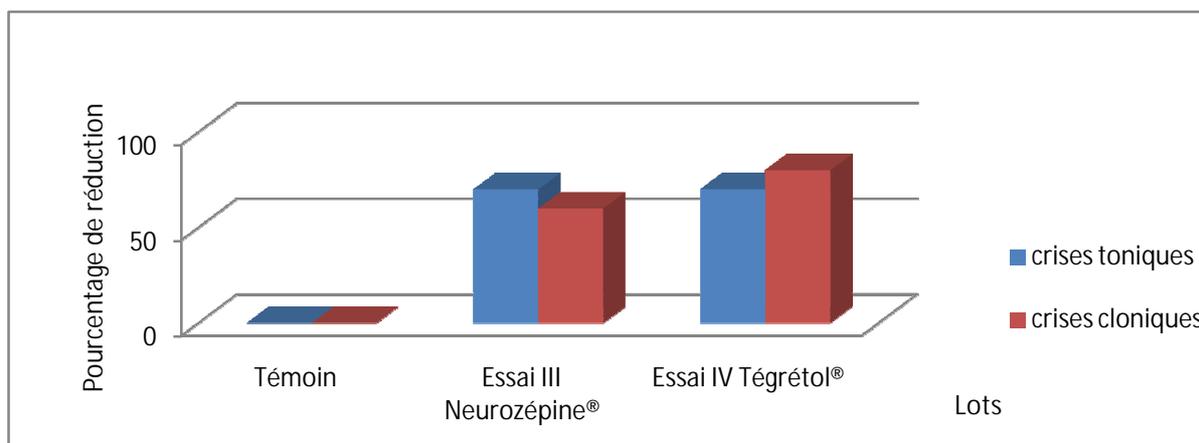


Figure 3: Activité anticonvulsivante de la Neurozépine® et du Tegretol®.

La différence observée entre les effets anticonvulsivants des deux médicaments non barbituriques testés était non significative (l'analyse des moyenne par le test de Student n'a montré aucune différence significative des moyennes au seuil de 5 %)

## III.2. ETUDE DE TOXICITE SUBAIGUE

### III.2.1. OBSERVATION CLINIQUE

#### III.2.1. Manifestations cliniques

Aucun signe clinique ou comportemental n'a été relevé chez les animaux traités au cours de notre protocole expérimental.

#### III.2.2. Mortalité

Aucune mortalité n'a été rapportée que ce soit dans le lot témoin ou les lots traités durant les 14 jours de l'expérimentation.

### III.2.3. Evolution pondérale

Le poids corporel des rats traités est resté comparables à celui des rats témoins pendant les deux semaines d'expérimentation (Tableau VI et Figure 4).

Tableau VI: Evolution pondérale des rats témoins versus rats traités

	Lot Témoin	Lot Essai I	Lot Essai II
J 0	248,25 ± 7,09	248,00 ± 6,02	250,63 ± 2,13
J 7	253,88 ± 3,76	250,38 ± 2,67	255,00 ± 2,27
J 14	259,75 ± 5,90	251,88 ± 2,75	256,75 ± 2,60

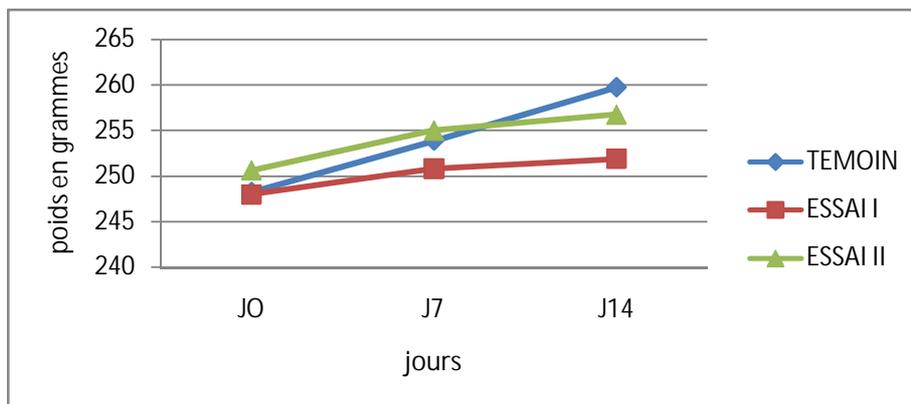


Figure 4: Evolution pondérale des rats témoins et des rats traités.

### III.2.4. Etude des paramètres biochimiques

Les tableaux suivants résument les résultats de l'étude de l'évolution des paramètres biochimiques après administration de Neurolal® et Gardénal® pendant 14 jours.

Les résultats détaillés sont repris en annexe.

Tableau VII: Moyennes des valeurs de la glycémie (g/l) des rats des lots témoin et traités.

Temps (j)	Lot Témoin	Lot Essai I	Lot Essai II
J 0	0,84 ± 0,07	0,81 ± 0,03	0,85 ± 0,02
J 7	0,80 ± 0,02	1,00 ± 0,05	0,88 ± 0,03
J 14	0,77 ± 0,02	0,98 ± 0,08	0,87 ± 0,02

Tableau VIII: Valeurs moyennes de la cholestérolémie (g/l) des rats des lots témoin et traités.

Temps (j)	Lot Témoin	Lot Essai I	Lot Essai II
J 0	0,68 ± 0,04	0,70 ± 0,08	0,70± 0,06
J 7	0,67 ± 0,04	0,82 ± 0,14	0,85 ± 0,23
J 14	0,66 ± 0,03	0,77± 0,12	0,80 ± 0,07

Tableau IX: Valeurs moyennes des triglycérides (g/l) des rats des lots témoin et traités.

Temps (j)	Lot Témoin	Lot Essai I	Lot Essai II
J 0	0,53 ± 0,08	0,53 ± 0,10	0,58 ± 0,11
J 7	0,52 ± 0,07	0,59 ± 0,12	0,68 ± 0,12
J 14	0,50 ± 0,02	0,58 ± 0,14	0,62 ±0,08

Tableau X : Valeurs moyennes de la créatinine (mg/l) des rats des lots témoin et traités.

Temps (j)	Lot Témoin	Lot Essai I	Lot Essai II
J 0	7,5 ± 2,2	9,6 ±3 ,2	7,5 ±2,0
J 7	8,3 ±2,2	11,6 ±2,3	8,5 ± 2,1
J 14	9,6 ±3,6	11,0±3,3	10,9 ±3,3

Tableau XI : Valeurs moyennes de la concentration de l'urée en (g/l)  
des rats des lots témoin et traités.

Temps (j)	Lot Témoin	Lot Essai I	Lot Essai II
J 0	0,52 ±0,03	0,47 ± 0,03	0,46 ± 0,08
J 7	0,51 ±0,054	0,49 ±0,038	0,48 ±0,054
J 14	0,53±0,029	0,50 ±0,033	0,49 ±0,063

L'étude des différents paramètres biochimiques a montré de légères différences significatives (avec le test de student au seuil de 5%) avant et après traitement pour les deux lots essais, mais ces derniers restent dans les normes.

### III.2.5. Etude des paramètres hématologiques

Les tableaux suivants résument les résultats de l'étude de l'évolution des paramètres hématologiques après administration de Neurolal® et Gardénal® pendant 14 jours.

Les résultats détaillés sont repris en annexe.

Tableau XII: Valeurs moyennes de la concentration d'hémoglobine en (g/dl)  
des rats témoins et des rats traités.

Temps (j)	Lot Témoin	Lot Essai I	Lot Essai II
J 0	14,74 ± 0,28	14,6 ± 0,37	14,94 ± 0,29
J 7	15,15 ± 0,41	15,47 ± 0,17	14,38 ± 1,02
J 14	14,90 ± 0,28	15,15 ± 0,48	14,67 ± 1,26

Tableau XIII : Valeurs moyennes des globules blancs des rats des lots témoin et traités.

Temps (j)	Lot témoin	Lot essai I	Lot essai II
J 0	8,15 ± 0,77	8,31 ± 0,81	8,39 ± 0,96
J 7	7,10 ± 0,66	7,80 ± 0,72	6,37 ± 1,15
J 14	7,85 ± 0,85	7,48 ± 1,02	7,47 ± 1,47

Tableau XIV: Valeurs moyennes des globules rouges des rats témoins et des rats traités.

Temps (j)	Lot témoin	Lot essai I	Lot essai II
-----------	------------	-------------	--------------

J 0	7,67 ± 0,46	7,75 ± 0,91	7,54 ± 0,32
J 7	7,68 ± 0,29	7,58 ± 0,48	7,82 ± 0,59
J 14	7,57 ± 0,38	7,59 ± 0,25	7,35 ± 0,37

Tableau XV: Valeurs moyennes de l'hématocrite des rats des lots témoin et traités.

Temps (j)	Lot Témoin	Lot Essai I	Lot Essai II
J 0	42,42 ± 0,84	41,88 ± 1,54	42,24 ± 1,10
J 7	44,04 ± 1,43	45,94 ± 0,90	40,60 ± 1,07
J 14	44,51 ± 1,27	44,82 ± 1,05	42,63 ± 3,16

L'étude des différents paramètres hématologiques a montré de légères différences entre les trois lots, mais ces dernières sont restés comparables à celles du lot témoin et dans les normes physiologiques admises.

Ces différences étaient statistiquement non significatives (test d'analyse de variance au seuil de 5%).

## IV. DISCUSSION & CONCLUSION

La sécurité et l'efficacité d'un médicament doivent être définies avant sa commercialisation. Outre les études *in vitro*, la plupart des effets biologiques de la molécule médicamenteuse se doit d'être caractérisée chez l'animal avant de débiter les essais cliniques chez l'espèce cible. Dans notre pays, l'autorisation de mise sur le marché de médicament vétérinaire s'appuie exclusivement sur les résultats des études réalisées à l'étranger. Pratiquement seules les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques sont vérifiées, l'innocuité et l'efficacité du médicament sont en revanche rarement contrôlées.

Ce présent travail avait pour premier objectif, l'évaluation de l'efficacité et de l'innocuité d'une molécule thérapeutique et plus particulièrement celles de médicaments anticonvulsivants. Le second objectif a été de mener une étude d'efficacité et de toxicité comparative entre des médicaments anticonvulsivants « princeps » : le Gardéнал® et le Tégrétol® et « génériques » : le Neurolal® et la Neurozepine®.

L'étude d'efficacité a été réalisée à la dose de 10 mg/kg conformément aux travaux antérieurs de Chapman et al (1982). Cette dose correspond à la dose efficace médiane qui réduit les crises convulsives expérimentales de 50%. (DE50).

Aucune différence significative n'a été constatée entre le Neurolal® (générique SAIDAL) et le Gardéнал® (produit de référence AVENTIS). Les deux produits ont ainsi réduit l'extension tonique des membres postérieurs des souris de plus de 50%, confirmant l'efficacité du phénobarbital dans la plus part des crises convulsives expérimentales (*Tadman et al, 1996*). Notre étude a permis de montrer une efficacité équivalente du générique par rapport à la molécule mère.

Une efficacité anticonvulsivante similaire a été obtenue avec la Neurozepine® (générique SAIDAL) et le Tégrétol® (produit de référence Novartis). Les deux médicaments ont réduit les crises toniques de plus de 50% chez les animaux testés (70% pour les deux produits). Ces résultats sont en adéquation avec les données de la littérature concernant l'efficacité de la carbamazépine sur les convulsions provoquées chez des rongeurs, par la stimulation électrique (*Theobald et Kunz, 1963; Koella et al, 1976; Stanistaw et Czuczwar, 2005*).

L'étude toxicologique réalisée sur des rats males, adultes ; de souche Wistar a été basée sur l'exploration de paramètres hématologiques et biochimiques après administration sub-chronique des deux barbituriques le Neurolal®, et le Gardéнал® à la dose de de 8mg/kg pendant 14 jours.

Aucune manifestation classique d'intoxication (adynamie, amaigrissement, diarrhée) n'a été rapportée quel que soit le groupe traité.

Cette étude n'a relevé non plus aucune modification du poids corporel des rats. Bien que des études précédentes aient rapportées qu'une prise de poids était l'un des effets secondaires du traitement à long terme du phénobarbital (*Bollinger et Kline, 2000 in Frontini, 2006*).

L'étude des paramètres hématologiques et biochimiques (formule sanguine, glycémie, urée, créatinine, cholestérol, triglycéride) n'a montré non plus aucune modification notable par rapport au lot témoins.

Bien que ces résultats montrent l'absence d'effets toxiques chez les sujets traités, ces résultats doivent être complétés par une étude de toxicité chronique avant de conclure définitivement à son innocuité. En effet, la prise en charge thérapeutique des crises convulsives implique la prise à vie de ces molécules anticonvulsivantes, entraînant fréquemment une augmentation de la cholestérolémie et de l'albuminémie (Muller, 2000). Notre étude aurait également été parachevée par l'exploration de certaines enzymes hépatiques (PAL, ALAT, GGT), souvent augmentées au cours de ce type de traitement (Muller, 2000).

Malheureusement des contraintes d'ordre technique et inhérentes au calendrier universitaire ne nous ont pas permis de réaliser ces explorations et, de poursuivre notre étude au delà de deux semaines consécutives.

En conclusion, notre étude a permis de démontrer une efficacité équivalente des molécules génériques SAIDAL le Neurolal® et la Neurozepine® versus Gardénal® et Tégrétol® (produit de référence) et de confirmer l'innocuité à moyen terme de ces molécules.

L'usage de médicaments génériques à l'efficacité équivalente, faciliterait grandement l'accès au traitement des animaux souffrants de crises convulsives (premier motif de consultation neurologique chez l'espèce canine) dans la mesure où le traitement par les médicaments princeps reste à ce jour extrêmement onéreux et constitue souvent une entrave majeure à la prise en charge thérapeutique des patients.

# Références bibliographiques

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANONYME., 2006.** Larousse médical .France. Ed .Larousse. Nouvelle édition .page 238.
- AUZEPY, PH., MANIGAND, G., 1990.**Accidents des médicaments.France .Ed .Ellipses .page 186.
- BIEDER, G .R.E., 2001.**Le traitement de l'épilepsie chez le chat .Thèse de doctorat en science vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse .pages 13, 14, 15, 46,47.
- BOUVENOT, G., VRAY, M., 2006.**Essais cliniques. Paris.Ed.flammarion.4ème Ed. p1, 2,3, 4.
- COHEN, Y., JACQUOT, C., 2008.**Abrégé de pharmacologie .Ed .Elsevier Masson . France.6ème Ed. France .pages 92, 93, 95, 97,98.
- DIARD, P., 2004** Traitement de l'épilepsie essentielle canine au phénobarbital : étude clinique de ses effets sur la concentration sérique des hormones thyroïdiennes chez les chiens golden et labrador retrievers .Thèse de doctorat en science vétérinaire. Université Claude-Bernard-Lyon I. Pages 26, 39, 73.<http://www.vet-lyon.fr> .Consulté le 16 juin 2009.
- FRONTINI, A., 2006.** Création d'un site internet à destination des propriétaires de carnivores atteints d'épilepsie primaire. Thèse de doctorat en science vétérinaire.ENV Alfort. Pages 9, 10, 15,16.<http://theses.vet-alfort.fr> .visité le 14juin 2009.
- HOVIN, G., 1990.** Pharmacocinétique .Frnce.Ed. ellipses .p251 ,252.
- HUGUET, I.D., 1988.**Contribution au diagnostic étiologique de l'épilepsie des carnivores domestiques l'examen tomодensitométrique. Thèse de doctorat en science vétérinaire. ENV Alfort. Pages 29, 30.
- KATZUNG, B., G., 2006.** Pharmacologie fondamentale et clinique .Ed .Piccin .9ème éd .Italie .p65, 66,69.
- MORAILLON, R., 1998.**Syndromes convulsifs des carnivores. 7p. Encyclopédie vétérinaire neurologie 0600.vol.5 Pages 1, 2, 3, 5,6.
- MORAILLON, R., LEGEAY, Y., BOUSSARIE, D., 2007.**Dictionnaire pratique de thérapeutique chien, chat et nac. Ed. Elsevier. Masson .France .6ème Ed .pages 145-146.
- NEAL, M., 2003.**Pharmacologie médicale .Bruxelle-Belgique.Ed .de Boeck .2ème Ed .p105.
- SCHEAR, M. ,2006 .** Médecine clinique du chien et du chat. France.Ed .Masson .page 505.

**SCHMITT, H., 1980.**Elément de pharmacologie .France.Ed .Flammarion, 7<sup>ème</sup> éd .N •9390 .P 301.

**SPRIET, A., 1997.**Aspects méthodologiques des essais d'antiépileptiques .La lettre du pharmacologue.vol .11, 12,17. <http://agmed.sante.gouv.fr/htm/10/iam/indiam.htm>

**TALBERT, M., WILLOQUET, G., GERVAIS, R., 2006.**Guide pharmaco.  
Italie.Ed .Lamarre .  
Pages 7, 8, 850,855 ,856 .

**THOMAS, P., 2004.**Traitement médical des épilepsies : EMC.

**TOUITOU, Y., 2007.**Pharmacologie .Ed .Masson. France.11<sup>ème</sup> éd . page 355.

**VILLE, P.G. ,2005.**Les crises convulsives chez le chat : diagnostic étiologique et traitement.  
Thèse de doctorat en science vétérinaire ENVA (Alfort).Pages 9 ,18.<http://theses.vet-alfort.fr> .Consulté le 14juin 2009.

# Annexes

## ANNEXE 1 :

### I-Technique à l'électrochoc :

#### I-1- Calcul des dilutions et des doses de produits :

##### I-1-1-Phénobarbital :

Selon la référence bibliographique le phénobarbital ( Neurolal® et Gardéнал®) est utilise à dose : 10 mg/ kg

- Dose par souris :

Pour 10mg  $\longrightarrow$  1000g

X mg  $\longrightarrow$  20 g

(20 g représente la moyenne des poids de souris)

$$X = 0.2 \text{ mg}$$

- Quantité d'eau distillé utilisé pour dilué un comprimé

Pour 0.2 mg  $\longrightarrow$  0.5 ml (ce qui représente le volume toléré par les souris)

100 mg  $\longrightarrow$  Xml

$$X = 250 \text{ ml}$$

Donc un comprimé de phénobarbital (Neurolal® et Gardéнал®) à 100 mg est diluée avec 250 ml d'eau distillé.

##### I-1-2- Carbamazepine :

Selon la référence bibliographique le phénobarbital (Neurolal® et Gardéнал®) est utilise à dose : 100mg/ kg

Pour 100 mg  $\longrightarrow$  1000g

X mg  $\longrightarrow$  20g

(20 g représente la moyenne des poids de souris)

$$X = 2 \text{ mg}$$

Quantité d'eau distillée utilisé :

Pour 2mg  $\longrightarrow$  0.5ml

200 mg  $\longrightarrow$  X

$$X = 50 \text{ ml}$$

Donc un comprimé de Carbamazepine (Tegretol® et Neurozepine®) à 200 mg est dilué avec 50 ml d'eau distillé.

## II- Toxicité subaiguë :

### II-1- Détermination de la dose à administrer de phénobarbital ( Neurolal® et Gardéнал®)

On a utilisé une dose de 8 mg/Kg de pc/jours qui à été préparé selon le calcule de la dose correspondante au poids moyen des rats (200 g)

8mg (de phénobarbital) —————> 1000g

X1 —————> 200g

X1= 1,6 mg

1,6 mg : c'est la quantité de phénobarbital pour un rat de 200g ; retrouvé dans 2 ml de la solution.

2ml : volume de la solution que peut recevoir un rat.

- Quantité d'eau distillé utilisé pour dilué un comprimé

Pour 1,6 mg —————> 2 ml (ce qui représente le volume toléré par les souris)

100 mg —————> Xml

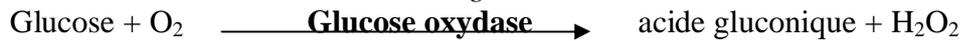
X= 125 ml

Donc un comprimé de phénobarbital (Neurolal® et Gardéнал®) à 100 mg est dilué avec 125 ml d'eau distillé.

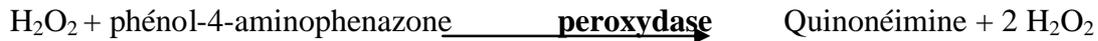
## Annexe 2

### 1-Dosage de la glycémie

**Réaction 1 : réaction du dosage**



**Réaction 2 : réaction indicatrice**

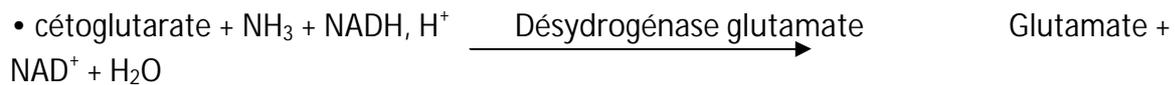


La lecture de la densité optique s'effectue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 505 nm, après incubation de 10 min à 37°C. La concentration en glucose est déterminée par la formule suivante :

$$\text{Glucose (g/l)} = \text{DO échantillon} / \text{DO étalon} \times 1$$

### 1- Dosage de l'urée

Reaction:



La lecture de la densité optique s'effectue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 590nm, après 2 heures d'incubation à l'abri de la lumière pour la stabilité de la coloration. La concentration de l'urée est déterminée par la formule suivante :

$$\text{Urée (g/l)} = \text{DO échantillon} / \text{DO étalon} \times$$

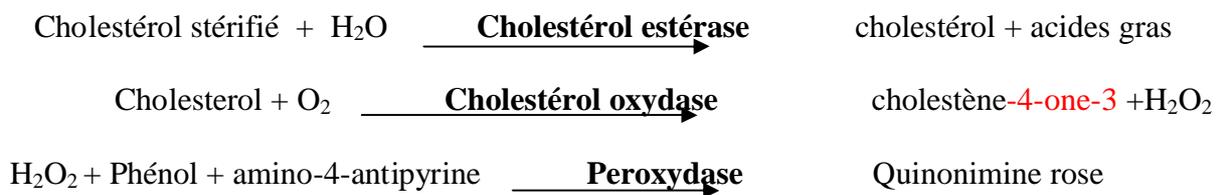
### 3- Dosage de la créatinine

En milieu alcalin, la créatinine forme avec le picrate un complexe coloré (couleur jaune orange) dont l'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration en créatinine.

Une première lecture des densités optiques ( $DO_1=590\text{ nm}$ ) 30 secondes après l'addition de l'échantillon ou du standard et une deuxième lecture est effectuée exactement 1 minute après la première lecture ( $DO_2$ ). la concentration en créatinine est déterminée par la formule suivante :

$$\text{Créatinine (g/l)} = \frac{DO \text{ échantillon}}{DO \text{ étalon}} \times 2$$

#### 4- Dosage de cholestérol total

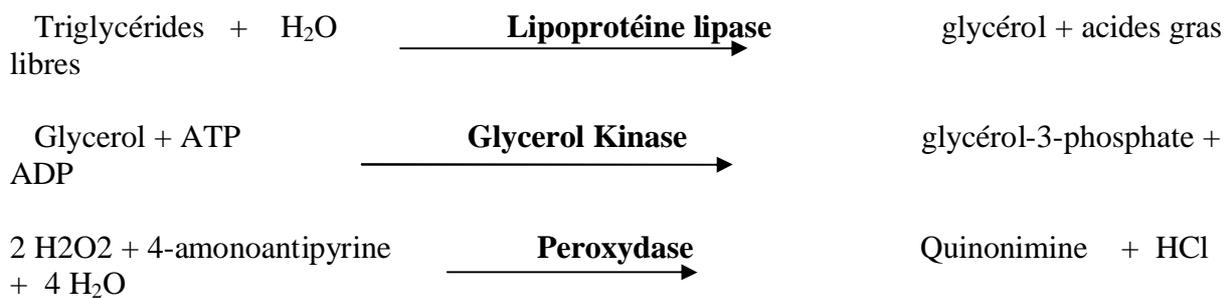


La lecture de la densité optique s'effectue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 505nm, après 10 min d'incubation à 37°C. La concentration du cholestérol est déterminée par la formule suivante :

$$\text{Cholestérol (g/l)} = \frac{DO \text{ échantillon}}{DO \text{ étalon}} \times 2$$

#### 5- Dosage des triglycérides

Les triglycérides sont enzymatiquement hydrolysés en glycérol selon les réactions suivantes :



La lecture de la densité optique s'effectue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 505nm, après 10 min d'incubation à 37°C. La concentration des triglycérides est déterminée par la formule suivante :

$$\text{Triglycérides (g/l)} = \frac{DO \text{ échantillon}}{DO \text{ étalon}} \times$$



Tableau n°2 : valeurs du poids corporel des rats contrôle et des rats traités en gramme

	N° de rats	Jour 0	7 <sup>eme</sup> jours	14 <sup>eme</sup> jours
TEMOIS	R1	245	252	261
	R2	252	255	259
	R3	255	254	258
	R4	260	262	273
	R5	241	253	256
	R6	248	254	260
	R7	239	249	253
	R8	246	252	258
	Moyenne	<b>248,25</b>	<b>253,88</b>	<b>259,75</b>
	Ecartype	<b>7,09</b>	<b>3,76</b>	<b>5,90</b>
ESSAI1	R1	245	249	248
	R2	250	250	253
	R3	254	252	250
	R4	259	254	256
	R5	243	251	254
	R6	245	248	250
	R7	241	246	254
	R8	247	253	250
	Moyenne	<b>248,00</b>	<b>250,38</b>	<b>251,88</b>
	Ecartype	<b>6,02</b>	<b>2,67</b>	<b>2,75</b>
ESSAI2	R1	250	256	257
	R2	253	251	253
	R3	254	257	258
	R4	252	254	253
	R5	248	253	256
	R6	249	256	258
	R7	250	255	259
	R8	249	258	260
	Moyenne	<b>250,63</b>	<b>255,00</b>	<b>256,75</b>
	Ecartype	<b>2,13</b>	<b>2,27</b>	<b>2,60</b>

Tableau 3 : Valeurs de la glycémie (g/l) des rats contrôle et des rats traités.

	N° de rats	Jour 0	7 <sup>eme</sup> jours	14 <sup>eme</sup> jours
TEMOIS	R1	0,76	0,85	0,73
	R2	0,58	0,76	0,73
	R3	1,15	0,83	0,72
	R4	1,08	0,74	0,75
	R5	0,94	0,75	0,73
	R6	0,74	0,82	0,83
	R7	0,72	0,83	0,85
	R8	0,72	0,77	0,84
	Moyenne	<b>0,84</b>	<b>0,80</b>	<b>0,77</b>
	Ecartype	<b>0,21</b>	<b>0,04</b>	<b>0,02</b>
ESSAI I	R1	0,88	1,04	0,82
	R2	0,95	1,10	0,99
	R3	0,74	1,02	1,1
	R4	0,74	0,74	0,85
	R5	0,89	1,10	0,9
	R6	0,78	1,14	1,5
	R7	0,75	1,00	0,82
	R8	0,74	0,88	0,85
	Moyenne	<b>0,81</b>	<b>1,00</b>	<b>0,98</b>
	Ecartype	<b>0,05</b>	<b>0,13</b>	<b>0,23</b>
ESSAI II	R1	0,94	0,81	0,86
	R2	0,89	0,87	0,82
	R3	0,86	0,99	0,85
	R4	0,74	0,96	0,87
	R5	0,87	0,85	0,78
	R6	0,82	0,98	0,85
	R7	0,85	0,80	0,95
	R8	0,85	0,79	0,96
	Moyenne	<b>0,94</b>	<b>0,88</b>	<b>0,89</b>
	Ecartype	<b>0,06</b>	<b>0,03</b>	<b>0,06</b>

Tableau 4 : Valeurs du cholestérol (g/l) des rats contrôle et des rats traités.

	N° des rats	Jour 0	7 <sup>eme</sup> jours	14 <sup>eme</sup> jours
TEMOIS	R1	0,62	0,73	0,72
	R2	0,73	0,72	0,73
	R3	0,72	0,70	0,72
	R4	0,71	0,70	0,71
	R5	0,67	0,62	0,68
	R6	0,71	0,65	0,65
	R7	0,66	0,75	0,7
	R8	0,62	0,73	0,69
	Moyenne	<b>0,68</b>	<b>0,67</b>	<b>0,66</b>
	Ecartype	<b>0,04</b>	<b>0,04</b>	<b>0,03</b>
	ESSAI I	R1	0,68	1,06
R2		0,73	0,92	0,91
R3		0,58	0,74	0,78
R4		0,70	0,62	0,83
R5		0,55	0,74	0,78
R6		0,64	0,87	0,75
R7		0,79	0,72	0,73
R8		0,69	0,92	1,05
Moyenne		<b>0,70</b>	<b>0,82</b>	<b>0,77</b>
Ecartype		<b>0,08</b>	<b>0,14</b>	<b>0,12</b>
ESSAI II		R1	0,64	1,05
	R2	0,69	0,53	0,82
	R3	0,65	0,56	0,78
	R4	0,68	0,75	0,74
	R5	0,59	0,90	0,81
	R6	0,58	0,46	0,68
	R7	0,76	0,94	0,83
	R8	0,72	0,97	0,85
	Moyenne	<b>0,70</b>	<b>0,85</b>	<b>0,80</b>
	Ecartype	<b>0,06</b>	<b>0,23</b>	<b>0,07</b>

Tableau 5 : Valeurs des triglycérides (g/l) des rats contrôle et des rats traités.

TEMOIS	R1	0,44	0,61	0,6
	R2	0,58	0,56	0,61
	R3	0,51	0,56	0,55
	R4	0,57	0,42	0,56
	R5	0,42	0,46	0,59
	R6	0,49	0,55	0,6
	R7	0,68	0,59	0,59
	R8	0,52	0,48	0,55
	Moyenne	<b>0,53</b>	<b>0,52</b>	<b>0,50</b>
	Ecartype	<b>0,08</b>	<b>0,07</b>	<b>0,02</b>
ESSAI I	R1	0,43	0,53	0,56
	R2	0,53	0,65	0,78
	R3	0,45	0,50	0,46
	R4	0,68	0,65	0,58
	R5	0,42	0,60	0,75
	R6	0,55	0,54	0,82
	R7	0,64	0,43	0,62
	R8	0,49	0,83	0,85
	Moyenne	<b>0,53</b>	<b>0,59</b>	<b>0,58</b>
	Ecartype	<b>0,10</b>	<b>0,12</b>	<b>0,14</b>
ESSAI II	R1	0,43	0,67	0,63
	R2	0,44	0,49	0,73
	R3	0,38	0,66	0,58
	R4	0,73	0,73	0,75
	R5	0,52	0,54	0,55
	R6	0,48	0,37	0,55
	R7	0,61	0,58	0,59
	R8	0,45	0,56	0,55
	Moyenne	<b>0,58</b>	<b>0,68</b>	<b>0,62</b>
	Ecartype	<b>0,11</b>	<b>0,12</b>	<b>0,08</b>

Tableau 6 : Valeurs de créatinine (mg/l) des rats contrôle et des rats traités.

	N° de rats	Jour 0	7 <sup>eme</sup> jours	14 <sup>eme</sup> jours
TEMOIS	R1	8	6	12
	R2	10	11	15
	R3	5	10	7
	R4	5	6	4
	R5	11	11	13
	R6	6	8	8
	R7	8	6	8
	R8	7	8	10
	Moyenne	<b>7,5</b>	<b>8,3</b>	<b>9,6</b>
	Ecartype	<b>2,2</b>	<b>2,2</b>	<b>3,6</b>
ESSAI I	R1	14	14	12
	R2	12	12	14
	R3	10	12	8
	R4	6	7	9
	R5	10	14	15
	R6	4	12	10
	R7	11	10	6
	R8	10	12	14
	Moyenne	<b>9,6</b>	<b>11,6</b>	<b>11,0</b>
	Ecartype	<b>3,2</b>	<b>2,3</b>	<b>3,3</b>
ESSAI II	R1	10	8	10
	R2	8	8	14
	R3	8	4	4
	R4	4	9	9
	R5	6	9	12
	R6	7	11	13
	R7	10	10	14
	R8	7	9	11
	Moyenne	<b>7,5</b>	<b>8,5</b>	<b>10,9</b>
	Ecartype	<b>2,0</b>	<b>2,1</b>	<b>3,3</b>

Tableau 7: Valeurs de L'urée (g/l) des rats contrôle et des rats traités.

	N° de rats	Jour 0	7 <sup>eme</sup> jours	14 <sup>eme</sup> jours
TEMOIS	R1	0.49	0.51	0.53
	R2	0.52	0.40	0.47
	R3	0.52	0.50	0.52
	R4	0.58	0.56	0.58
	R5	0.56	0.58	0.59
	R6	0.54	0.54	0.54
	R7	0.50	0.52	0.53
	R8	0.49	0.50	0.52
	Moyenne	<b>0.52</b>	<b>0,513</b>	<b>0.53</b>
	Ecartype	<b>0.03</b>	<b>0,054</b>	<b>0.029</b>
ESSAI I	R1	0.5	0.51	0.51
	R2	0.55	0.57	0.58
	R3	0.43	0.46	0.50
	R4	0.48	0.50	0.49
	R5	0.46	0.46	0.46
	R6	0.45	0.47	0.50
	R7	0.47	0.49	0.51
	R8	0.47	0.49	0.50
	Moyenne	<b>0.47</b>	<b>0,493</b>	<b>0.506</b>
	Ecartype	<b>0.03</b>	<b>0,038</b>	<b>0.033</b>
ESSAI II	R1	0.59	0.59	0.60
	R2	0.48	0.49	0.51
	R3	0.40	0.42	0.43
	R4	0.44	0.46	0.47
	R5	0.56	0.55	0.56
	R6	0.49	0.49	0.49
	R7	0.35	0.40	0.43
	R8	0.37	0.44	0.49
	Moyenne	<b>0.46</b>	<b>0,48</b>	<b>0.49</b>
	Ecartype	<b>0.08</b>	<b>0,054</b>	<b>0.063</b>

ANNEXE 4 :

A- ETUDE STATISTIQUE COMPARAISON DE MOYENNE

**A-1- Etude des propriétés anticonvulsivante :**

**A-1-1- Comparaison moyenne produit générique NEUROLAL® et GARDINAL®**

**a / Crise tonique**

RAT	Nombre de crises toniques NEUROLAL®	Nombre de crises toniques GARDINAL®
1	0	0
2	0	0
3	0	1
4	1	0
5	0	0
6	1	0
7	0	1
8	0	1
9	0	0
10	1	1
MOYENNE	0,3	0,4
ECARTYPE	0,48304589	0,51639778
VAR	0,23333333	0,26666667
FISHER	0,84558817	2
STUDENT	0,66005565	

**DIFFERENCE NON SIGNIFICATIVE**

**b/ crise clonique**

RAT	Nombre de crises cloniques NEUROLAL®	Nombre de crises cloniques GARDINAL®
1	0	1
2	1	1
3	0	0
4	0	0
5	1	1
6	0	0
7	1	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0
MOYENNE	0,3	0,3
ECARTYPE	0,48304589	0,48304589
VAR	0,23333333	0,23333333
FISHER	1	2
STUDENT	1	

**DIFFERENCE NON SIGNIFICATIVE**

**A-1-2- Comparaison moyenne produit générique NEUROZEPINE® et TEGRETOL®**

**a / Crise tonique**

RAT	Nombre de crises toniques NEUROZEPINE®	Nombre de crises toniques TEGRETOL®
1	0	0
2	0	1
3	1	1
4	0	0
5	1	0
6	0	1
7	1	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0
MOYENNE	0,3	0,39*/
ECARTYPE	0,48304589	0,48304589
VAR	0,23333333	0,23333333
FISHER	1	2
STUDENT	1	

**DIFFERENCE NON SIGNIFICATIVE**

**b/ Crise clonique**

RAT	Nombre de crises cloniques NEUROZEPINE®	Nombre de crises cloniques TEGRETOL®
1	0	1
2	1	0
3	0	0
4	1	0
5	0	0
6	0	0
7	1	0
8	0	0
9	1	1
10	0	0
MOYENNE	0,4	0,2
ECARTYPE	0,51639778	0,42163702

VAR	0,26666667	0,17777778
FISHER	0,55544544	2
STUDENT	0,35534583	

**DIFFERENCE NON SIGNIFICATIVE**

**A-2- Etude de la toxicité subaiguë :**

**A-2-1-Paramètres biochimiques**

**A-2-1-1-Comparaison des moyens de la glycémie :**

a/ comparaison des moyennes de la glycémie

NEUROLAL® avant traitement et après traitement (lot essai I)

RAT	Essai I avant traitement	Essai I après traitement
1	0,88	0,82
2	0,95	0,99
3	0,74	1,1
4	0,74	0,85
5	0,89	0,9
6	0,78	1,5
7	0,75	0,82
8	0,74	0,85
MOYENNE	0,80875	0,97875
ECARTYPE	0,08458934	0,23185202
VAR	0,00715536	0,05375536
FISHER	0,01630509	3
STUDENT	0,08381492	

**DIFFERENCE NON SIGNIFICATIVE**

b/ comparaison des moyennes de glycémie

GARDINAL® avant traitement et après traitement (lot essai II)

RAT	Essai II avant traitement	Essai I I après traitement
1	0,94	0,86
2	0,89	0,82
3	0,86	0,85
4	0,74	0,87
5	0,87	0,78
6	0,82	0,85
7	0,85	0,95
8	0,85	0,96
MOYENNE	0,8525	0,8675
ECARTYPE	0,05750776	0,06088631
VAR	0,00330714	0,00370714
FISHER	0,88414099	2
STUDENT	0,62033644	

**DIFFERENCE NON SIGNIFICATIVE**

**A-2-1-2-Comparaison des moyens du cholestérol :**

a/ Comparaison des moyennes du cholestérol

NEUROLAL® avant traitement et après traitement (lot essai I)

RAT	Essai I avant traitement	Essai I après traitement
1	0,68	0,98
2	0,73	0,91
3	0,58	0,78
4	0,7	0,83
5	0,55	0,78
6	0,64	0,75
7	0,79	0,73
8	0,69	1,05
MOYENNE	0,67	0,85125
ECARTYPE	0,0781939	0,11655011
VAR	0,00611429	0,01358393
FISHER	0,31417534	2
STUDENT	0,00261104	

**DIFFERENCE SIGNIFICATIVE**

b/ Comparaison des moyennes du cholestérol

GARDENAL® avant traitement et après traitement (lot essai II)

RAT	Essai II avant traitement	Essai II après traitement	
1	0,64	0,92	
2	0,69	0,82	
3	0,65	0,78	
4	0,68	0,74	
5	0,59	0,81	
6	0,58	0,68	
7	0,76	0,83	
8	0,72	0,85	
MOYENNE	0,66375	0,80375	
ECARTYPE	0,06162965	0,07229651	
VAR	0,00379821	0,00522679	
FISHER	0,6841907	2	
STUDENT	0,00094736		

### DIFFERENCE SIGNIFICATIVE

#### A-2-1-3-Comparaison des moyens des triglycérides:

a/ Comparaison des moyennes des triglycérides

NEUROLAL® avant traitement et après traitement (lot essai I)

RAT	Essai I avant traitement	Essai I après traitement	
1	0,43	0,56	
2	0,53	0,78	
3	0,45	0,46	
4	0,68	0,58	
5	0,42	0,75	
6	0,55	0,82	
7	0,64	0,62	
8	0,49	0,85	
MOYENNE	0,52375	0,6775	
ECARTYPE	0,09620477	0,14129503	
VAR	0,00925536	0,01996429	
FISHER	0,33197993	2	
STUDENT	0,02338643		

### DIFFERENCE SIGNIFICATIVE

b/ Comparaison des moyennes des triglycérides

GARDINAL® avant traitement et après traitement (lot essai II)

RAT	Essai II avant traitement	Essai II après traitement
1	0,43	0,63
2	0,44	0,73
3	0,38	0,58
4	0,73	0,75
5	0,52	0,55
6	0,48	0,55
7	0,61	0,59
8	0,45	0,55
MOYENNE	0,505	0,61625
ECARTYPE	0,11401754	0,08122939
VAR	0,013	0,00659821
FISHER	0,39091662	2
STUDENT	0,04123295	

## DIFFERENCE SIGNIFICATIVE

### A-2-1-4-Comparaison des moyens de la créatinine:

a/ Comparaison des moyennes de créatinine

NEUROLAL® avant traitement et après traitement (lot essai I)

RAT	Essai I avant traitement	Essai I après traitement
1	14	12
2	12	14
3	10	8
4	6	9
5	10	15
6	4	10
7	11	6
8	10	14
MOYENNE	9,625	11
ECARTYPE	3,20434972	3,25137334
VAR	10,2678571	10,5714286
FISHER	0,97032906	2
STUDENT	0,40858774	

## DIFFERENCE NON SIGNIFICATIVE

a/ Comparaison des moyennes de créatinine

GARDENAL® avant traitement et après traitement (lot essai II)

RAT	Essai II avant traitement	Essai II après traitement
1	10	10
2	8	14
3	8	4
4	4	9
5	6	12
6	7	13
7	10	14
8	7	11
MOYENNE	7,5	10,875
ECARTYPE	2	3,31393163
VAR	4	10,9821429
FISHER	0,20608781	2
STUDENT	0,02718163	

### DIFFERENCE SIGNIFICATIVE

#### A-2-1-5-Comparaison des moyens de l'urée:

a/ Comparaison des moyennes de l'urée

NEUROLAL® avant traitement et après traitement (lot essai I)

RAT	Essai I avant traitement	Essai I après traitement
1	0,5	0,51
2	0,55	0,58
3	0,43	0,5
4	0,48	0,49
5	0,46	0,46
6	0,45	0,5
7	0,47	0,51
8	0,47	0,5
MOYENNE	0,47625	0,50625
ECARTYPE	0,03622844	0,03377975
VAR	0,0013125	0,00114107
FISHER	0,85824181	2
STUDENT	0,10875298	

### DIFFERENCE NON SIGNIFICATIVE

b/ Comparaison des moyennes de l'urée

GARDINAL® avant traitement et après traitement (lot essai II)

RAT	Essai II avant traitement	Essai II après traitement
1	0,59	0,6
2	0,48	0,51
3	0,4	0,43
4	0,44	0,47
5	0,56	0,56
6	0,49	0,49
7	0,35	0,43
8	0,37	0,49
MOYENNE	0,46	0,4975
ECARTYPE	0,08652002	0,05922114
VAR	0,00748571	0,00350714
FISHER	0,33850878	2
STUDENT	0,32888122	

**DIFFERENCE NON SIGNIFICATIVE**

### **A-2-2-Paramètres hématologique**

#### **A-2-2-1 Comparaison des moyens de l'hémoglobine**

a- Comparaison des moyens de l'hémoglobine

NEUROLAL® avant traitement et après traitement (lot essai I)

RAT	Essai I avant traitement	Essai I après traitement
1	15,2	15,7
2	15,6	15,35
3	15,43	14,97
4	15,5	15,81
5	15,6	15,92
6	15,7	15,37
7	15,3	14,99
MOYENNE	15,4757143	15,4442857
ECARTYPE	0,17831219	0,38104493
VAR	0,03179524	0,14519524
FISHER	0,08694977	2
STUDENT	0,84662675	

**DIFFERENCE NON SIGNIFICATIVE**

#### **b-Comparaison des moyens de l'hémoglobine**

GARDINAL® avant traitement et après traitement (lot essai II)

RAT	Essai II avant traitement	Essai II après traitement
1	14,5	15,6
2	14,3	14,81
3	15,1	15,6
4	13,2	14,73
5	13	15,93
6	15,9	15,439
7	14,7	14,9
MOYENNE	14,3857143	15,287
ECARTYPE	1,02050408	0,46904833
VAR	1,04142857	0,22000633
FISHER	0,08028391	2
STUDENT	0,05522523	

**DIFFERENCE NON SIGNIFICATIVE**

#### **A-2-2-2 Comparaison des moyens des globules blancs**

a- Comparaison des moyens des globules blancs  
NEUROLAL® avant traitement et après traitement (lot essai I)

RAT	Essai I avant traitement	Essai I après traitement
1	8,1	7,69
2	7,7	8,79
3	7,7	8,54
4	7,3	7,9
5	8,1	6,7
6	6,7	6,8
7	9,01	8,1
MOYENNE	7,80142857	7,78857143
ECARTYPE	0,72158226	0,80092506
VAR	0,52068095	0,64148095
FISHER	0,80650388	2
STUDENT	0,97534615	

**DIFFERENCE NON SIGNIFICATIVE**

a- Comparaison des moyens des globules blancs  
GARDINAL® avant traitement et après traitement (lot essai II)

RAT	Essai II avant traitement	Essai II après traitement
1	7,1	7,654
2	7	6,99
3	8	7,13
4	6,9	7,72
5	5,2	7,93
6	5,1	7,79
7	5,3	6,7
MOYENNE	6,37142857	7,41628571
ECARTYPE	1,15428807	0,47064839
VAR	1,33238095	0,2215099
FISHER	0,04625401	3
STUDENT	0,05763272	

**DIFFERENCE NON SIGNIFICATIVE**

### A-2-2-3 Comparaison des moyens des globules rouges

a- Comparaison des moyens des globules rouges  
NEUROLAL® avant traitement et après traitement (lot essai I)

RAT	Essai I avant traitement	Essai I après traitement
1	7,93	7,36
2	7,59	8,03
3	7,53	7,83
4	6,56	7,42
5	7,61	7,28
6	7,88	6,92
7	7,98	7,41
MOYENNE	7,58285714	7,46428571
ECARTYPE	0,48585712	0,3650962
VAR	0,23605714	0,13329524
FISHER	0,5046294	2
STUDENT	0,61510135	

**DIFFERENCE NON SIGNIFICATIVE**

b- Comparaison des moyens des globules rouges  
GARDINAL® avant traitement et après traitement (lot essai II)

RAT	Essai II avant traitement	Essai II après traitement
1	7,1	7,37
2	7,65	7,62
3	8,51	7,25
4	7,51	7,78
5	7,52	7,53
6	8,78	7,53
7	7,67	7,4
MOYENNE	7,82	7,49714286
ECARTYPE	0,59911045	0,17509181
VAR	0,35893333	0,03065714
FISHER	0,00863131	3
STUDENT	0,2133447	

**DIFFERENCE NON SIGNIFICATIVE**

**A-2-2-3 Comparaison des moyens de l'hématocrite**

a- Comparaison des moyens de l'hématocrite  
 NEUROLAL® avant traitement et après traitement (lot essai I)

RAT	Essai I avant traitement	Essai I après traitement
1	44,4	45,2
2	47,4	44,4
3	45,4	44,6
4	46	42,9
5	46,2	48,1
6	46,1	47,8
7	46,1	43,3
MOYENNE	45,9428571	45,1857143
ECARTYPE	0,90527554	2,04403895
VAR	0,81952381	4,17809524
FISHER	0,06792133	2
STUDENT	0,38783415	

**DIFFERENCE NON SIGNIFICATIVE**

b- Comparaison des moyens de l'hématocrite  
 GARDINAL® avant traitement et après traitement (lot essai I)

RAT	Essai II avant traitement	Essai II après traitement
1	40,8	46,7
2	40,3	45
3	42,5	46,2
4	40,3	44,6
5	39,01	45,8
6	41,2	45,12
7	40,1	41,2
MOYENNE	40,6014286	44,9457143
ECARTYPE	1,0776584	1,80572107
VAR	1,16134762	3,26062857
FISHER	0,23456657	2
STUDENT	0,00014394	

**DIFFERENCE SIGNIFICATIVE**

## RESUME

Les convulsions sont des anomalies neurologiques fréquemment rencontrées en médecine humaine et vétérinaire. Le recours à des anticonvulsivants permet au praticien de faire face à la plupart des cas et de d'offrir une vie quasi normale au patient. La prise en charge thérapeutique des crises convulsives fait toujours appel à des molécules anciennes telles que le phénobarbital et la carbamazépine.

Après une mise au point bibliographique succincte sur l'étiopathogénie et la prise en charge thérapeutique des crises convulsives, notre étude a eu pour principaux objectifs : l'évaluation des propriétés anti convulsivantes et l'étude de la toxicité subaiguë de deux médicaments génériques le Neurolal® et la Neurozepine® développées par le groupe SAIDAL versus le Gardénal® et le Tégrétol® (produits de référence).

Les résultats de notre étude ont montré une efficacité équivalente des molécules génériques à celles des produits de référence et ont permis de confirmer leur innocuité à moyen terme.

**Mot clés :** crises convulsives, anticonvulsivants, phénobarbital, carbamazépine, activité anticonvulsivante, toxicité subaiguë.

## SUMMARY

The convulsions are neurological anomalies frequently encountered in human and veterinary medicine. The use of anticonvulsants allows the practitioner to deal with the most cases and to offer a life almost normal to the patient. The care therapeutic of seizures is still using old molecules such as phenobarbital and carbamazepine.

After a succinct bibliographic review on etio-pathogenesis and therapeutic treatment of seizures, the main objectives of the present study, were the assessment of the efficacy and the subacute toxicity of two generics Neurolal® and the Neurozepine® developed by SAIDAL group compared to the Gardenal® and the Tegretol® (reference products).

The results of our study showed similar efficacy of molecules generic to those of reference products and confirmed their safety to medium term.

**Keywords:** seizures, anticonvulsants, phenobarbital, carbamazepine, anticonvulsant activity, subacute toxicity

التشنجات هي حالات غير عادية (مرضية) تمس الأعصاب ، وهي مصادفة بكثرة في الطب العام والطب البيطري .  
اللجوء الى استخدام مضادات التشنج يسمح للطبيب بمواجهة معظم الحالات واستعادة المريض لحياة نصف طبيعية . ولا تزال تستخدم جزيئات  
للتكفـل العلاجـي بالتشـنجات قديمـة مثـل : Carbamazépine و Phénobarbital

وبعد بحث موجز في هذا الميدان وفي حالات العناية بأزمات التشنج ، تهدف دراساتنا أساسا الى تقويم المميزات الضد- تشنجية ودراسة السمية دون  
والتي تعتبر مواد Gardénal و Tégrétol المنتجة من طرف مجمع صيدال ، مقابل Neurozepine و Neurolal الحادة لنوعين من الأدوية  
(منتجات) مرجعية.  
نتائج دراستنا أظهرت أن الجزيئات المنتجة من طرف SAIDAL لها فعالية مماثلة للمنتجات المرجعية ، كما أكدت سلامتها على المدى المتوسط ( )  
أي غياب أعراض السمية دون الحادة).

**الكلمات المفتاحية ،** النشاط الضد-تشنجي، السمية دون الحادة ، Carbamazépine ، Phénobarbital، الازمات التشنجية، مضادات التشنج،