

Monographie

Pr ZOVIRAX[®]

Onguent d'acyclovir à 5 %, USP

Agent antiviral

GlaxoSmithKline Inc.
7333 Mississauga Road
Mississauga (Ontario)
L5N 6L4

Date de rédaction :
Le 21 mars 2007

N° de contrôle :

© 2007 GlaxoSmithKline Inc. Tous droits réservés.

[®]ZOVIRAX est une marque déposée de GlaxoSmithKline Inc.

Monographie

PrZOVIRAX[®]
Onguent d'acyclovir à 5 %, USP

Agent antiviral

Mode d'action et pharmacologie clinique

ZOVIRAX[®] (acyclovir), analogue nucléosidique acyclique, est un substrat spécifique de la thymidine-kinase à spécificité d'herpèsvirus. Il inhibe la réplication de ces virus. La thymidine-kinase cellulaire normale n'utilise pas efficacement l'acyclovir en tant que substrat. La thymidine-kinase à spécificité d'herpèsvirus transforme l'acyclovir en monophosphate qui est alors transformé en acyclovir diphosphate et en acyclovir triphosphate par des enzymes cellulaires. L'acyclovir triphosphate est en même temps un inhibiteur et un substrat de l'ADN-polymérase à spécificité d'herpèsvirus. Bien que l' α -ADN-polymérase cellulaire dans les cellules infectées puisse également être inhibée par l'acyclovir triphosphate, cela ne se produit que lorsque les concentrations d'acyclovir triphosphate sont plus élevées que celles qui inhibent l'ADN-polymérase à spécificité d'herpèsvirus. L'acyclovir est sélectivement converti en sa forme active dans les cellules infectées par l'herpèsvirus et ainsi absorbé de façon préférentielle par ces cellules. Ainsi, l'acyclovir a un potentiel toxique beaucoup moins élevé dans les cellules normales et non infectées parce que : 1) l'absorption est moindre; 2) une moins grande quantité d'acyclovir est convertie en sa forme active; 3) l' α -ADN-polymérase cellulaire a une affinité moindre pour la forme active du produit.

Indications et usage clinique

L'onguent ZOVIRAX[®] (acyclovir) à 5 % est indiqué pour traiter les épisodes initiaux d'infections génitales d'herpès simplex. Il est également indiqué pour traiter les infections cutanées du virus herpès simplex qui ne mettent pas la vie du patient en danger, chez les patients immunodéprimés. L'utilisation de cette préparation à titre prophylactique n'a pas encore été établie.

Dans le cas de l'herpès génital, il faudra procéder aux examens appropriés pour écarter les autres maladies à transmission sexuelle.

Ces indications se basent sur les résultats d'un grand nombre d'essais à double insu et contrôlés par placebo. Ces essais visaient à examiner les changements quant à l'excrétion virale, la guérison des lésions et le soulagement de la douleur. Étant donné les grandes variations biologiques propres aux infections d'herpès simplex, le résumé suivant est présenté simplement pour illustrer le spectre des réactions observées jusqu'à présent. Comme pour toute maladie infectieuse, on peut obtenir une meilleure réaction lorsque le traitement débute dès les premiers signes.

Chez les patients immunodéprimés, 93 % ne présentaient pas de virus après cinq jours de traitement topique avec ZOVIRAX[®], tandis que seulement 35 % des volontaires qui prenaient du placebo ne portaient pas de virus non plus. Chez les patients atteints d'herpès labial, il y a eu une diminution remarquable de la quantité de virus excrété après un jour de traitement appliqué en deçà de huit heures avant l'apparition des boutons de fièvre chez les patients qui recevaient ZOVIRAX[®] par rapport à ceux qui recevaient un traitement identique placebo.

Étant donné que la ré-épithélialisation complète du tégument perturbé par l'herpès requiert la contribution de plusieurs mécanismes de réparation fort complexes, le médecin devrait savoir que la guérison des lésions visibles est assez variable et qu'elle se produira après l'élimination de l'excrétion virale. Pour tous les patients immunodéprimés qui ont reçu une administration topique de ZOVIRAX[®], les lésions étaient guéries 23 jours après le commencement d'un

traitement d'une durée de 10 jours. Chez des patients qui prenaient le placebo pendant cette même période, 75 % des lésions étaient guéries. Certains patients qui prenaient le placebo ont souffert de lésions visibles pendant plus de 30 jours.

La douleur associée aux infections herpétiques varie grandement en fréquence et en intensité. Cent pour cent des patients immunodéprimés qui utilisaient ZOVIRAX[®] ne ressentaient plus de douleur au 23^e jour, comparativement à 70 % des patients traités par un placebo.

Alors que les lésions cutanées associées aux infections d'herpès simplex sont souvent pathognomoniques, les frottis de Tzanck tirés d'exsudats ou de raclage de lésions pourraient aider au diagnostic¹. Les cultures positives du virus herpès simplex constituent le seul moyen de confirmation catégorique du diagnostic¹.

Contre-indications

L'onguent ZOVIRAX[®] (acyclovir) à 5 % est contre-indiqué chez les patients qui développent une hypersensibilité ou une intolérance chimique aux composants du produit, par exemple au polyéthylèneglycol.

Mise en garde

L'onguent ZOVIRAX[®] (acyclovir) à 5 % est destiné à une administration topique seulement et ne doit pas être administré dans l'œil ou sur les muqueuses.

Précautions

Généralités

Il ne faut pas dépasser la posologie recommandée, la fréquence d'application et la durée du traitement avec l'onguent ZOVIRAX[®] (acyclovir) à 5 % (voir POSOLOGIE ET ADMINISTRATION).

Actuellement, il n'existe aucune donnée qui démontre que l'utilisation de l'onguent ZOVIRAX[®] à 5 % prévient la transmission de l'infection à d'autres personnes.

Comme la plupart des infections cutanées dues au virus de l'herpès simplex résultent de la réactivation du virus latent, il est peu probable que l'onguent ZOVIRAX[®] à 5 % prévienne les récurrences lorsqu'on l'applique en l'absence de signes et de symptômes. On ne devrait pas appliquer l'onguent ZOVIRAX[®] à 5 % dans le but de prévenir les récurrences. On ne devrait entreprendre le traitement qu'aux premiers signes prodromiques.

Bien qu'on n'ait observé aucune résistance virale d'importance clinique reliée à l'utilisation de l'onguent ZOVIRAX[®] à 5 %, une telle possibilité existe.

Fonction sexuelle/reproduction

On ne dispose d'aucune information sur l'effet des présentations orales d'acyclovir sur la fertilité des femmes. Dans le cadre d'une étude menée chez 20 hommes présentant une numération des spermatozoïdes normale, l'acyclovir administré par voie orale à des doses allant jusqu'à 1 g par jour pendant une période atteignant six mois n'a donné lieu à aucun effet significatif du point de vue clinique sur la numération, la motilité ou la morphologie des spermatozoïdes.

Mères qui allaitent

L'acyclovir administré par voie générale est excrété dans le lait maternel chez l'humain. Bien que les données dont on dispose semblent indiquer que l'absorption cutanée de l'acyclovir est minime, la prudence s'impose quand on prescrit de l'acyclovir à une femme qui allaite.

Grossesse

Toutes les études animales effectuées jusqu'à présent sur la reproduction et la tératologie ont donné des résultats négatifs. Cependant, étant donné que les études de reproduction animale ne sont pas toujours représentatives de la réaction humaine, l'onguent ZOVIRAX[®] à 5 % ne devrait être utilisé pendant la grossesse que si le médecin juge que les avantages l'emportent sur les risques encourus par le fœtus.

Un registre des grossesses sur l'acyclovir, créé après la commercialisation du produit, a permis de recueillir des données sur l'issue de la grossesse chez les femmes exposées à l'une ou l'autre des préparations de ZOVIRAX[®]. Ces données n'ont pas révélé de hausse du nombre de malformations congénitales parmi les sujets exposés à ZOVIRAX[®] par rapport à la population générale. De plus, les malformations congénitales notées ne présentaient aucune caractéristique exclusive ou répétitive qui laisserait supposer qu'elles sont attribuables à une cause commune.

Enfants

L'innocuité de l'administration de l'onguent ZOVIRAX[®] à 5 % chez les enfants n'a pas été établie.

Interactions médicamenteuses

L'expérience clinique n'a permis de constater aucune interaction provoquée par l'administration de façon topique ou par voie générale d'autres médicaments en concomitance avec l'onguent ZOVIRAX[®] à 5 %.

Effets indésirables

Étant donné que les lésions génitales ulcérées sont typiquement douloureuses et sensibles à tout contact ou manipulation, les patients pourraient éprouver des malaises lors de l'application de l'onguent. Au cours d'essais cliniques contrôlés, on a signalé une douleur légère (y compris une brûlure et des picotements passagers) chez 103 (28,3 %) des 364 patients traités à l'aide de l'onguent ZOVIRAX[®] (acyclovir) à 5 % et chez 115 (31,1 %) des 370 patients traités à l'aide du placebo. Le traitement a été interrompu chez 2 de ces patients. D'autres réactions locales observées chez les patients traités avec l'acyclovir comprenaient le prurit chez 15 patients (4,1 %), le rash chez 1 patient (0,3 %) et la vulvite chez 1 patient (0,3 %). Chez les patients ayant reçu le placebo, on a rapporté 17 cas (4,6 %) de prurit et 1 cas (0,3 %) de rash.

Dans toutes les études, il n'y avait aucune différence importante entre le médicament et le placebo quant à la proportion ou au type de réactions indésirables.

On a signalé de très rares cas de réactions d'hypersensibilité immédiate à l'acyclovir topique, incluant l'angio-œdème.

Surdosage : symptômes et traitement

Le surdosage par application topique de l'onguent ZOVIRAX[®] (acyclovir) à 5 % est assez peu probable à cause de l'absorption percutanée limitée.

Posologie et administration

Appliquer une quantité généreuse d'onguent ZOVIRAX[®] (acyclovir) à 5 % sur la région affectée, 4 à 6 fois par jour, pour un maximum de 10 jours. Une quantité suffisante d'onguent devrait être appliquée de manière à couvrir toutes les lésions. Il faudra utiliser un doigtier ou un gant de caoutchouc lors de l'application de ZOVIRAX[®], afin d'éviter (1) la contamination d'autres sites du corps ou (2) la transmission de l'infection à d'autres personnes. Le traitement devrait commencer le plus tôt possible après l'apparition des signes et des symptômes.

Renseignements pharmaceutiques

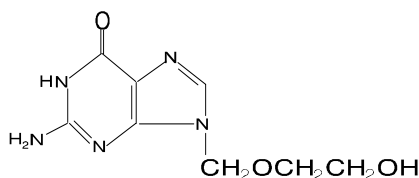
Principe actif

Dénomination commune : Acyclovir

Dénomination chimique : 9-(2-hydroxyéthoxyméthyl) guanine

Autres noms : Acycloguanosine et BW 248U

Formule développée :



Formule moléculaire : C₈H₁₁N₅O₃

Poids moléculaire : 225,2 daltons

Description : L'acyclovir est une poudre blanche, cristalline, dont la solubilité maximum dans l'eau est de 1,3 mg/mL à 20 °C.

Présentation

L'onguent ZOVIRAX[®] (acyclovir) à 5 % est offert en tubes de 4 g, 15 g et 30 g. Chaque gramme contient 50 mg d'acyclovir dans une base de polyéthylène glycol. L'onguent ZOVIRAX[®] à 5 % est destiné à un usage topique.

Virologie

Spectre d'activité *in vitro*

On n'a pas établi de rapport entre la sensibilité *in vitro* du virus herpès simplex (HSV), du virus varicelle-zoster (VZV) et du cytomégalovirus (CMV) aux médicaments antiviraux et la réponse clinique. Les techniques et types de cultures cellulaires utilisés pour déterminer la sensibilité *in vitro* pourraient influencer les résultats obtenus. Selon une analyse quantitative qui a déterminé quelle concentration d'acyclovir produit une inhibition à 50 % de l'effet cytopathique viral (DI₅₀), 28 isolats cliniques d'HSV-1 avaient une DI₅₀ allant de 0,02 à 0,70 µg/mL (moyenne de 0,17 µg/mL) et 32 isolats cliniques d'HSV-2 avaient une DI₅₀ de 0,01 à 3,16 µg/mL (moyenne de 0,46 µg/mL)²³. Les résultats d'autres études effectuées à l'aide d'analyses différentes ont donné des valeurs moyennes de DI₅₀ de 0,018, 0,03 et 0,043 µg/mL chez les isolats cliniques d'HSV-1, et des valeurs de 0,027, 0,36 et 0,03 µg/mL chez les isolats cliniques d'HSV-2, respectivement^{2,3,4}.

Le dosage de la réduction des plaques a révélé que 9 isolats cliniques de VZV avaient une DI₅₀ de 0,70 à 2,32 µg/mL (moyenne de 1,52 µg/mL). (Données de GlaxoSmithKline Inc.)

On a noté une réduction du spectre d'activité *in vitro* chez 5 isolats cliniques de CMV. Le dosage de la réduction des plaques a révélé une DI₅₀ de 2,25 à 12,81 µg/mL (moyenne de 8,22 µg/mL). (Données de GlaxoSmithKline Inc.)

Études enzymatiques - Effets de l'acyclovir - TP sur les ADN-polymérase virale et cellulaire

Des études sur le temps d'addition de l'acyclovir ont montré que le composant était efficace au début du cycle de réplication de l'HSV-1, soit dans les 8 heures suivant l'infection. Lorsqu'on a ajouté le composant à des cellules herpétiques Vero en couches simples après les 8 heures suivant l'infection, on n'a noté aucune activité antivirale². La formation d'acyclovir triphosphate a été décelée deux heures après l'addition du médicament aux cultures herpétiques, et elle a atteint son maximum 8 heures plus tard. Ces résultats semblent indiquer que l'acyclovir a été activé et qu'il a exercé son effet inhibitoire au début du cycle de réplication de l'HSV-1, fort probablement durant la synthèse de l'ADN.

L'ADN-polymérase à spécificité d'herpèsvirus a été identifiée comme étant l'une des principales enzymes qui font leur apparition peu après l'infection. Par conséquent, elle semblait constituer une enzyme-cible probable pour l'action de l'acyclovir-TP. L'ADN-polymérase à spécificité herpétique a été extraite des cellules Hela infectées par l'HSV-1 et purifiée à l'aide d'une chromatographie sur colonne DEAE suivie d'une chromatographie sur colonne de phosphocellulose⁵. L'ADN-polymérase de ces cellules infectées a également été isolée. Des études cinétiques ont alors été entreprises à l'aide de divers modèles synthétiques (dC.odG et dA.odT) pour vérifier l'identité des ADN-polymérase virale et cellulaire. L'effet inhibitoire de l'acyclovir-TP sur ces deux ADN-polymérase a alors été déterminé. Les résultats obtenus ont indiqué que l'acyclovir-TP était un inhibiteur compétitif de dGTP pour les ADN-polymérase virale et cellulaire. Cependant, dans tous les cas, l'acyclovir-TP était un meilleur inhibiteur de l'ADN-polymérase virale que de l'ADN-polymérase cellulaire. Des constantes d'inhibition ont été obtenues grâce à des ADN-polymérase virales isolées d'HSV-1 (souches H29, KOS et MacIntyre), d'HSV-2 (souches MS et 333) et de cytomégalovirus humain (souche AD 169), ainsi que des α -ADN-polymérase de cellules Hela S-3, Vero, WI-38 et L-929. Ces constantes sont énumérées ci-dessous⁶.

Source de polymérase à virus induit ou α -cellulaire	K_i apparent (μM acyclo-GTP)
HSV-1 (souche H29)	0,08
HSV-1 (souche MacIntyre)	1,42
HSV-1 (souche KOS)	0,55
HSV-2 (souche MS)	0,45
HSV-2 (souche 333)	0,56
Cytomégalovirus humain (souche AD 169)	0,25
HeLa S-3	2,34
Vero	2,09
W1-38	1,86
L-929	2,80

Par conséquent, le locus d'action (mécanisme) de l'acyclovir-TP semble causer l'inhibition de la l'ADN-polymérase virale. Étant donné que l'inhibition est plus grande pour l'enzyme virale que pour l'enzyme cellulaire, la sélectivité de l'acyclovir est encore accrue davantage. Cela, ajouté à la quantité beaucoup plus importante d'acyclovir-TP présent dans les cellules herpétiques, aide à expliquer la grande différence dans la capacité du médicament d'inhiber la multiplication ($DI_{50} = 0,1 \mu\text{M} = 22,5 \mu\text{g/mL}$) des virus herpétiques (souche H29)⁵ par rapport à l'inhibition de la multiplication des cellules Vero ($DI_{50} = 300 \mu\text{M} = 67,5 \mu\text{g/mL}$).

Des études sur les enzymes de l'ADN-polymérase virale prouvent que l'acyclovir est incorporé dans l'ADN viral. Cette incorporation est rapide au début, si on utilise $25 \mu\text{M}$ d'acyclovir-triphosphate, mais elle est vite interrompue à cause de l'inactivation de la polymérase⁶. On s'attendrait à ce que l'incorporation de l'acyclovir dans l'ADN constitue l'étape d'interruption de la chaîne puisqu'il n'existe pas de groupes hydroxyles qui correspondent au groupe 3'-OH du déoxyribose pour assurer la liaison 3', 5' -phosphodiester. Une telle interruption de la chaîne a été démontrée dans la ligne cellulaire LH₇ qui a été transformée de TK⁻ en TK⁺ par un fragment d'ADN d'HSV-1. Cette ligne cellulaire exprime l'HSV-TK, produit l'acyclovir triphosphate et, en s'y incorporant, interrompt les chaînes d'ADN⁷.

Études avec inoculation d'épreuve

Des études avec inoculation d'épreuve ont été effectuées chez une grande variété d'animaux (souris, lapins, cobayes et singes). Administré sous forme d'onguent à 3 % (l'œil contralatéral servant de contrôle), l'acyclovir a produit une guérison rapide de la kératite oculaire chez les lapins. Il était aussi efficace que l'iododéoxyuridine^{8,9,10}, et la trifluorothymidine⁹ ou supérieur à la trifluorothymidine⁸, la vidarabine^{8,11} et l'idoxuridine^{12,13}. Les présentations topique¹² et intraveineuse⁹ de l'acyclovir ont respectivement apporté une protection de partielle à totale contre les conséquences fatales de l'encéphalite survenue après l'inoculation de l'herpès simplex dans les yeux des animaux.

Un effet thérapeutique a été noté contre l'encéphalite herpétique chez les souris, à des doses orales de 100 mg/kg deux fois par jour pendant cinq jours¹⁴, ou à des doses orales continues de 400 mg/kg pendant 7 jours¹⁵.

Il a également été démontré qu'une administration sous-cutanée de 100 mg/kg/jour - commencée 12 heures après l'inoculation virale - pendant quatre jours consécutifs affecte le taux de survie et les titres chez les souris témoins affectées par l'herpès encéphalitique¹⁶.

Le traitement topique s'est avéré efficace contre les lésions herpétiques cutanées chez les souris^{17,18}, ainsi que chez les cobayes^{17,18}.

On a également démontré que l'acyclovir par voie intraveineuse était efficace pour le traitement des infections expérimentales du virus de l'herpès de type B chez les lapins¹⁹.

Résistance

Le mécanisme qui permet à l'acyclovir d'inhiber la réplication du virus herpès simplex comprend deux enzymes virales, la thymidine-kinase (TK)²⁰ et l'ADN-polymérase⁶. Les virus d'herpès qui ne sont pas capables de produire de TK ou dont les enzymes présentent des modifications des

spécificités des substrats peuvent ne pas être sensibles à l'action de l'acyclovir^{21,22}, puisque sans l'action de la TK, le médicament n'est pas transformé en quantités suffisantes en sa forme active à l'intérieur de la cellule infectée. Semblablement, si l'ADN-polymérase est altérée, elle ne pourra peut-être pas utiliser l'acyclovir activé. Ces changements peuvent entraîner une augmentation de la quantité de médicament requise pour inhiber le virus.

Une méthode colorimétrique a été utilisée pour quantifier l'inhibition de l'effet cytopathique viral. À partir de ces données, on peut calculer la concentration de médicament qui produit une inhibition à 50 % de la réplication virale (DI₅₀) (cette analyse donne des valeurs de DI₅₀ qui sont à peu près dix fois plus élevées que les valeurs de la DI₅₀ obtenues par le dosage de la réduction des plaques). McLaren *et al.* ont effectué une étude au cours de laquelle des isolats cliniques de patients atteints d'infections d'herpès simplex de type 1 ou de type 2 ont été mesurés à l'aide du dosage de la réduction de CPE. La valeur moyenne de la DI₅₀ des isolats d'HSV-1 était de 0,17 µg/mL tandis que la moyenne des isolats d'HSV-2 était un peu plus élevée, soit 0,46 µg/mL²³. Selon les résultats initiaux, les isolats viraux dont la DI₅₀ dépasse 2,0 µg/mL sont provisoirement considérés comme étant bien moins sensibles à l'acyclovir.

Il est possible d'isoler des souches d'HSV qui présentent une sensibilité réduite au médicament en cultivant le virus dans des cultures tissulaires traitées avec de l'acyclovir²⁴. De tels virus « résistants » ont habituellement une carence en activité de thymidine-kinase (TK). Au cours d'expérience en laboratoire, on a également isolé quelques mutants dont l'ADN-polymérase était modifiée, mais à une fréquence bien inférieure. Les expériences chez des animaux ont indiqué que bien que les mutants d'HSV à carence en TK soient capables d'infecter et de provoquer une production d'anticorps, ils sont habituellement bien moins capables de causer la maladie²⁴ et leur aptitude à établir des infections latentes dans les ganglions nerveux²⁵ est grandement réduite. L'importance clinique de ces données n'a pas encore été déterminée. Jusqu'à présent, aucune corrélation logique n'a été établie entre la résistance identifiée en laboratoire et l'expression clinique de la maladie HSV.

Des virus dont la sensibilité à l'acyclovir est réduite (DI₅₀ accrue) ont été décelés chez sept patients traités avec de l'acyclovir i.v. et chez trois patients traités avec l'onguent topique.

Ces isolats viraux particuliers ont également démontré une activité de la thymidine-kinase réduite.

La majorité des patients traités par voie intraveineuse chez lesquels on a isolé les virus moins sensibles étaient gravement immunodéprimés à cause d'une chimiothérapie ou de carences innées^{26,27,28,29}. Chez deux patients ayant subi une greffe osseuse, l'HSV à carence en TK a été excrété asymptomatiquement pendant une courte période après une importante réponse clinique au traitement par l'acyclovir administré par voie intraveineuse²⁷. Les virus dont l'activité de la TK était réduite ont également été isolés chez deux enfants souffrant de carences immunitaires graves à la suite d'un traitement initial réussi par l'acyclovir^{26,29}. L'affection clinique chez ces enfants ne s'est pas améliorée ni aggravée après l'apparition des virus à carence en TK. Chez les patients qui ont survécu à leur maladie sous-jacente, le virus à déficience en TK n'a pas été décelé pendant les rechutes subséquentes, et il ne semble pas que de tels isolats se soient propagés nosocomialement. Chez les patients immunocompétents atteints d'infections génitales d'HSV-2 qui étaient traités avec l'onguent ZOVIRAX[®] à 5 %, la cessation de la réplication virale et la guérison des lésions se sont produites en une période semblable à celle notée chez d'autres patients infectés par le virus, mais dont l'activité de la TK était normale²⁵.

Parmi les patients traités par un placebo, on a observé un changement de la sensibilité virale chez deux patients traités à l'aide de la préparation topique. Chez un de ces patients seulement, on a noté un accroissement de la DI_{50} accompagné d'une réduction de l'activité de la TK. Cinq patients à qui on a administré un placebo par voie intraveineuse ont présenté des changements de la sensibilité *in vitro* de leur population de virus pendant ou après l'administration du placebo. L'activité de la TK a été diminuée chez deux patients, est restée inchangée chez un et n'a pas été testée chez les trois autres.

On a identifié plusieurs patients chez qui le virus présent avant le traitement présentait déjà une DI_{50} relativement élevée, accompagnée parfois d'une réduction de l'activité de la TK. Dans les études portant sur l'administration par voie intraveineuse, il y avait six de ces patients au virus moins sensible. De tels virus ont également été trouvés dans le col, mais non dans les autres lésions d'un septième patient.

Il faut insister sur le fait que le rapport entre la sensibilité *in vitro* des virus herpétiques à l'acyclovir et la réponse clinique au traitement n'a pas encore été établi.

Pour toute tentative de corrélation de cette sorte, il ne faut pas oublier que les résultats d'essais de sensibilité *in vitro* sont affectés par le type de cellule; semblablement, chez le patient, l'efficacité du médicament dépendra grandement du type particulier de cellule humaine infectée et de la pharmacocinétique intracellulaire inconnue, mais probablement complexe, du médicament. Il faut également tenir compte du fait que la pertinence des valeurs de la DI_{50} - bien qu'il s'agisse là d'une mesure classique de la sensibilité aux agents antiviraux - peut varier selon la situation clinique, surtout chez les patients dont la réponse immunitaire est déficiente et qui seront peut-être incapables d'enrayer le virus, même à des concentrations grandement réduites. Les données indiquent que chez les patients immunocompétents porteurs de virus moins sensibles au cours d'un traitement à l'acyclovir, l'infection a suivi son cours normal et, pendant les rechutes subséquentes, on n'a pas décelé de virus «résistant». Cela pourrait signifier que les changements de sensibilité virale en tant que tels ne causent pas de problème cliniques. Étant donné le temps requis pour déterminer la sensibilité d'un virus à ZOVIRAX[®] et la faible fréquence avec laquelle les virus mutants ont été isolés, le test de sensibilité des isolats d'HSV, quoique désirable, n'est pas nécessaire avant le début du traitement.

Pharmacologie

L'administration de ZOVIRAX® aux adultes à des doses de 5 mg/kg (environ 250 mg/m² de surface corporelle) par infusion d'une heure toutes les huit heures produit des concentrations moyennes maximum et minimum stables de 9,8 µg/mL et de 0,7 µg/mL, respectivement.

Des concentrations semblables sont obtenues chez les enfants de plus de un an lorsque des doses de 250 mg/m² de surface corporelle sont administrées toutes les huit heures. Les concentrations obtenues dans le liquide céphalorachidien représentent environ 50 % des valeurs plasmatiques. La liaison des protéines plasmatiques est relativement faible (de 9 à 33 %) et on n'anticipe pas d'interactions médicamenteuses qui entraînent un déplacement du siège de la liaison.

L'excrétion rénale du médicament à l'état inchangé par filtration glomérulaire et par sécrétion tubulaire constitue la principale voie d'élimination. Chez l'homme, elle compte pour 62 à 91 % de la dose déterminée à l'aide de C¹⁴. Le seul métabolite urinaire important est 9-carboxyméthylméthylguanine. Une quantité minime de médicament est excrétée dans les fèces et dans le CO₂ expiré. Rien ne laisse supposer qu'il y aurait une rétention tissulaire.

La demi-vie et la clairance corporelle totale de l'acyclovir dépendent de la fonction rénale, comme on l'indique ci-dessous.

Clairance de la créatinine (mL/min/1,73 m ² SC*)	Demi-vie (heures)	Clairance corporelle totale (mL/min/1,73 m ² SC*)
> 80	2,4	332
50-80	2,9	251
15-50	3,7	185
0 (anurique)	18	26

* Surface corporelle

La demi-vie et la clairance corporelle totale de l'acyclovir chez les enfants de plus de un an sont semblables à celles notées chez les adultes dont la fonction rénale est normale.

Deux études cliniques de pharmacologie ont été effectuées à l'aide de l'onguent ZOVIRAX[®] à 5 % chez des patients adultes immunodéprimés, au risque de développer des infections cutanéomuqueuses du virus herpès simplex ou des infections localisées de varicelle-zoster. Ces études ont été conçues pour évaluer la tolérance dermique, la toxicité générale et l'absorption percutanée de l'acyclovir. Au cours d'une de ces études, qui comprenait 16 patients hospitalisés, l'onguent complet ou son excipient ont été administrés au hasard en doses composées de bandes de un cm (25 mg d'acyclovir) quatre fois par jour pendant sept jours, sur une surface cutanée intacte de 4,5 pouces carrés. Aucune intolérance, toxicité ou eczéma de contact n'ont été observés. De plus, un dosage par la méthode radio-immunologique³⁰ n'a révélé aucune trace de médicament dans le sang ni l'urine (sensibilité, 0,01 µg/mL).

L'autre étude portait sur onze patients souffrant de varicelle-zona localisée. Dans cette étude non contrôlée, on a décelé de l'acyclovir dans le sang de neuf patients et dans l'urine de tous les participants à l'étude. Les concentrations plasmatiques d'acyclovir variaient entre < 0,01 et 0,28 µg/mL chez huit patients dont la fonction rénale était normale, et entre < 0,01 et 0,78 µg/mL chez un patient dont la fonction rénale était insuffisante. L'acyclovir excrété dans l'urine variait entre 0,02 et 53,6 µg/mL (< 0,02 et 9,4 %) de la dose quotidienne. Par conséquent, l'absorption par voie générale de l'acyclovir après l'application topique est minime.

Toxicologie

Études de toxicité aiguë

Souris et rats et adultes : La toxicité aiguë de l'acyclovir a été déterminée comme suit :

Espèce	Sexe	Voie	DL ₅₀ (mg/kg)	Int. de conf. à		Signes
				95 %		
Souris	M	Orale	> 10 000	-		Aucun
Rat	M	Orale	> 20 000	-		Aucun
Souris	M	i.v.	405	-		Ataxie Dépression
Rat	M	i.v.	> 600	-		Aucun
Souris	M	i.p.	1 454	1 323-1 662		Sédation
Souris	F	i.p.	999	670-1 364		Sédation
Rat	M	i.p.	1 305	512-1 733		Sédation
Rat	F	i.p.	1 210	504-1 580		Sédation

Rats néonataux, immatures et adultes : Des groupes de dix rats mâles et dix rats femelles Charles River CD (Sprague-Dawley) ont reçu des doses uniques élevées (5 doses différentes) d'une solution (pH de 11,0) d'acyclovir par injection sous-cutanée, à l'âge de 3, 10, 28 et 71 jours. Ils ont été en observation pendant 14 jours après le traitement. Les valeurs de la DL₅₀ ont été calculées selon la méthode de Litchfield et Wilcoxon. Cette étude a été effectuée afin de déterminer si l'âge au moment de l'exposition affectait la toxicité aiguë de l'acyclovir; il n'y avait aucune preuve que les jeunes rats étaient plus sensibles aux effets de toxicité aiguë de l'acyclovir que les rats plus âgés.

<u>Âge lors du traitement</u>	<u>DL₅₀ (mg/kg de poids corporel)</u>	
	<u>Mâles</u>	<u>Femelles</u>
3 jours	1 070	1 281
10 jours	790	496
28 jours	678	750
71 jours	650	1 477

Il n'y avait aucun rapport visible entre la durée de survie après le traitement et l'âge lors du traitement. Les signes cliniques chez les rats traités à l'âge de 3 jours et de 10 jours, comprenaient des ampoules rouges et violettes, des régions bleutées, des croûtes, des cicatrices, une peau nécrotique et décollée, des plaies ouvertes, des tremblements du corps et une alopecie. Chez les rats soignés à l'âge de 20 et de 71 jours, on a observé une activité réduite, une larmimation, des paupières fermées, une matière rouge-brun ou brune autour des yeux, du nez et de la gueule, une ataxie, une prostration, des tremblements du corps, des taches d'urine autour de la région abdominale ou génitale, des régions nécrotiques ou couvertes de croûtes et de l'alopecie.

Étude de toxicité orale sous-chronique

Souris : Quatre groupes comprenant chacun 28 souris mâles et 28 souris femelles Charles River CD-1 (ICR) ont reçu, par voie orale, au moyen d'une sonde gastrique, des doses de suspensions d'acyclovir pendant 33 jours. Les doses quotidiennes s'élevaient à 0, 50, 150 et 450 mg/kg. Des tests de laboratoire hématologiques et cliniques ont été effectués chez 8 souris mâles et 8 souris femelles supplémentaires par groupe (aux mêmes doses) après les première et quatrième semaines d'administration et pendant la 3^e semaine suivant la fin du traitement. Les concentrations plasmatiques de l'agent ont été mesurées à partir d'échantillons réunis, prélevés chez quatre souris mâles et quatre souris femelles par groupe pendant la 1^{re}, 15^e et 31^e journées d'administration.

Selon les expériences préliminaires effectuées chez des rats et des souris, la forte dose de 450 mg/kg a été choisie pour produire, d'une manière pratique, les concentrations plasmatiques

les plus élevées du produit par administration orale chez des rongeurs. Les concentrations plasmatiques moyennes du produit variaient entre environ 3,4 µg/mL (à la dose la plus faible) et 11,0 µg/mL (à la dose la plus élevée) de plasma, une heure après l'administration orale.

Aucun changement n'a été enregistré quant à la santé, au rythme de croissance, à l'hématologie et aux tests de laboratoire cliniques qui puisse être attribué de manière catégorique à l'administration d'acyclovir. Des examens macroscopiques et histopathologiques effectués à la fin de la période d'administration chez 16 rats mâles et 16 rats femelles qui recevaient des doses élevées et des rats de contrôle n'ont rien révélé d'important.

Études de toxicité intraveineuse sous-chronique

Chiens beagles : Au cours d'une étude de 31 jours chez des chiens beagles, l'acyclovir a été administré par injection intraveineuse en bolus à des groupes de huit chiens (quatre mâles et quatre femelles) à des posologies de 0, 25, 50 et 100 mg/kg deux fois par jour.

Des doses intraveineuses de 50 ou 100 mg/kg deux fois par jour en bolus ont produit des taux plasmatiques très élevés [valeurs moyennes entre 45 et 254 µg/mL (200 et 1 127 µM)] qui étaient, de toute évidence, très toxiques, alors que l'administration de 25 mg/kg deux fois par jour a entraîné des taux plasmatiques bien inférieurs [entre 22,5 et 45 µg/mL (100 et 200 µM)], était très peu toxique et ne comportait presque pas d'effets indésirables.

Les principaux effets reliés au produit administré à 25 mg/kg deux fois par jour comprenaient : nausées ou vomissements rares, ou les deux à la fois, tachycardie occasionnelle, débit urinaire accru accompagné de réduction de la densité. Ces effets étaient réversibles et indécélables 15 jours après l'interruption du traitement.

À la posologie de 50 et de 100 mg/kg deux fois par jour, des effets indésirables ont été observés, parmi lesquels la dyspnée, l'hypothermie, l'hypoactivité, la diarrhée sanglante ou mucoïde, la déshydratation, la perte de poids corporel, l'anorexie partielle ou totale, la leucopénie, de légères

hausse sériques totales de protéine, d'albumine, de créatinine et d'azote uréique et, occasionnellement, de « forts » battements de cœur.

Les données se rapportaient directement au traitement médicamenteux à l'aide de doses de 50 et 100 mg/kg deux fois par jour, et comprenaient des nausées et des vomissements inférieurs, une tachycardie et de « forts » battements de cœur occasionnels, un débit urinaire accru, des gouttelettes d'hyaline dans le cytoplasme des cellules parenchymateuses du foie, de légers changements cytologiques des muqueuses du colon et une toxicité rénale. Certains autres changements que l'on considère secondaires à l'administration du médicament à des doses de 50 et de 100 mg/kg deux fois par jour comprenaient une atrophie des muscles squelettiques et du tissu adipeux, une déplétion des lipides du cortex des glandes surrénales, et une aspermie des testicules.

Des effets plus sérieux comprenaient des tremblements, une cyanose, une prostration et la mort prématurée (moins de 8 jours après le début de l'étude).

Rats : Un groupe de 15 rats mâles et de 15 rats femelles Sprague-Dawley ont reçu une injection quotidienne en bolus de 20, 40 ou 80 mg/kg d'acyclovir pendant 20 et 21 jours consécutifs. Le produit était composé de solution isotonique à 2 % dans du chlorure de sodium stérile à 0,4 %. Un groupe de contrôle a reçu une injection quotidienne de chlorure de sodium stérile à 0,9 %.

À toutes les doses, la plupart sinon tous les rats souffraient de lésions rénales qui semblaient être causées par l'obstruction du néphron distal par des précipités de cristaux du produit. Les lésions étaient plus graves aux doses élevées et on s'attendait à ce qu'il se produise une obstruction du néphron distal : dilatation tubulaire rétrograde et dégénération épithéliale, nécrose et régénération. Il y avait également un composant interstitiel inflammatoire dans les reins les plus gravement atteints.

Des cristaux biréfringents étaient visibles dans certaines parties des reins qui avaient été gelées avant la fixation au formol, mais pas dans les sections conventionnelles de paraffine, car ces dernières avaient été rendues solubles par les procédés de fixation et de coloration au formol.

L'examen des sections des reins de rats 15 jours après la dernière administration, a révélé des changements résiduels bénins et réparables, ou l'absence de lésion. Cela indique que la néphropathie obstructive est réversible.

On considère que les effets cliniques du médicament sont reliés aux changements rénaux. Ces derniers consistent en un poids corporel réduit, des taux élevés d'azote uréique du sang, un apport hydrique et un débit urinaire accrus, ainsi qu'un accroissement des poids moyens absolus et relatifs des reins.

Dans une deuxième étude menée sur des rats, on a administré de plus petites doses du médicament pour tenter d'atteindre un niveau qui ne causerait aucun effet. Des doses de 5 ou 10 mg/kg/jour ont été administrées par injection en bolus simple pendant 19 ou 20 jours consécutifs. Le groupe de contrôle recevait une solution de chlorure de sodium à 0,9 %.

Chez les rats, la seule donnée qui semble certainement liée à l'administration du médicament est une légère dilatation des tubules distaux des reins de 2 des 20 animaux auxquels on a administré 5 mg/kg d'acyclovir. On a pensé que la dilatation était due à une obstruction récente, sinon encore présente du néphron distal par des cristaux du produit (bien qu'ils n'aient pas été trouvés dans les sections de paraffine pour les raisons expliquées plus haut).

Études de toxicité chronique

Rapport intérimaire de 52 semaines sur une étude de toxicité orale de 104 semaines chez des rats auxquels on a administré de l'acyclovir par intubation gastrique : Des rats Charles River CD (Sprague-Dawley) ont reçu des suspensions d'acyclovir par gavage pendant 52 semaines au cours d'une étude de 104 semaines. Il y avait 50 mâles et 50 femelles pour chacune des doses suivantes : 0, 50, 150 et 450 mg/kg. Après 30 et 52 semaines de traitement, 10 mâles et 10 femelles de chaque groupe ont été autopsiés. Des tissus des rats de contrôle et de ceux du groupe recevant la dose élevée ont été examinés au microscope classique, pour les sacrifices intérimaires des 30^e et 52^e semaines de traitement. Des tissus fixés de rats trouvés

morts au cours des 52 premières semaines de l'étude ont également été examinés au microscope classique.

Aucun signe de toxicose n'a été noté. Les taux plasmatiques moyens obtenus chez les mâles qui recevaient des doses élevées (450 mg/kg/jour) 1,5 h après l'administration, à différents temps d'échantillonnage au cours de l'étude, se présentaient comme suit : 1,54; 1,63; 1,39 et 1,60 µg/mL (6,84; 7,26; 6,17 et 7,10 µM) respectivement, aux 7^e, 90^e, 209^e et 365^e jours.

Les taux plasmatiques équivalents pour les femelles qui recevaient des doses élevées étaient de 1,76; 2,38; 2,12 et 1,71 µg/mL (7,82; 10,58; 9,44 et 7,62 µM). Les taux plasmatiques, chez les mâles et chez les femelles, à toutes les doses, après un an de traitement, étaient en général comparables aux taux plasmatiques obtenus d'échantillonnages effectués plus tôt. Les essais de laboratoire, y compris l'hématologie, la chimie clinique et l'ophtalmoscopie, ont tous donné des résultats normaux. Il n'y avait aucune lésion, macroscopique ou microscopique, causée par le produit chez les rats tués lors de sacrifices intérimaires aux 30^e et 52^e semaines. La plupart du petit nombre de rats trouvés morts ou moribonds pendant les 52 premières semaines de l'étude ont souffert d'accidents posologiques révélés par la découverte postmortem de perforation œsophagienne, causant un épanchement pleural, une pneumonie ou une médiastinite.

Étude à vie sur l'action carcinogène orale chez les rats : Il n'y avait aucun signe de toxicose chez les rats Charles River CD (Sprague-Dawley) (100 rats de chaque sexe par groupe posologique) auxquels on a administré, par gavage oral, de l'acyclovir à des doses de 50, 150 et 450 mg/kg au cours d'une étude à vie sur l'action carcinogène orale. Les taux plasmatiques moyens obtenus à partir de doses élevées chez des mâles 1,5 h après l'administration, à différentes heures d'échantillonnage au cours de l'étude, étaient de 1,54; 1,63; 1,39; 1,60 et 1,70 µg/mL (6,84; 7,26; 6,17; 7,10 et 7,56 µM), respectivement aux 7^e, 90^e, 209^e, 369^e et 771^e jours. Les valeurs moyennes correspondantes pour les femelles qui ont reçu des doses élevées étaient de 1,76; 2,38; 2,12; 1,71 et 1,81 µg/mL (7,82; 10,58; 9,44; 7,62 et 8,03 µM).

Les valeurs pour les essais cliniques de laboratoire, y compris l'hématologie, la chimie clinique, l'examen des urines, le poids corporel, la consommation alimentaire et l'ophtalmoscopie ont

toutes donné des résultats normaux. Il n'y avait aucune lésion macroscopique ou microscopique causée par le produit, ni aucune preuve que l'acyclovir affecte la survie, le schéma temporel de l'incidence tumorale ou les numérations tumorales des néoplasmes bénins ou malins.

Étude à vie sur l'action carcinogène orale chez les souris : Il n'y avait aucun signe de toxicose chez les souris Charles River CD-1 (ICR) (115 souris de chaque sexe par groupe posologique) auxquelles on a administré, par gavage oral, de l'acyclovir à des doses de 50, 150 et 450 mg/kg au cours d'une étude à vie sur l'action carcinogène orale.

Les taux plasmatiques moyens obtenus à partir de doses élevées chez des mâles 1,5 h après l'administration à différents temps d'échantillonnage au cours de l'étude étaient de 2,83; 3,17 et 1,82 µg/mL (12,59; 14,10 et 8,10 µM) respectivement aux 90^e, 365^e et 541^e jours. Les valeurs moyennes correspondantes pour les femelles qui recevaient des doses élevées étaient de 9,81; 5,85 et 4,0 µg/mL (43,60; 26,0 et 17,79 µM).

Les valeurs pour les essais cliniques de laboratoire, y compris l'hématologie, le poids corporel et la consommation alimentaire ont toutes donné des résultats normaux. Il n'y avait aucune lésion, macroscopique ou microscopique, causée par le produit. Les souris femelles auxquelles on a administré 150 et 450 mg/kg d'acyclovir ont survécu beaucoup plus longtemps que les souris femelles de contrôle. La survie des mâles traités était comparable à celle des mâles de contrôle. Les schémas d'incidence tumorale et de numérations tumorales des néoplasmes bénins ou malins n'ont pas été affectés par l'acyclovir.

Rapport final sur une étude de toxicité chronique orale de 12 mois, et intérimaire de 6 mois, chez les chiens : Des chiens beagles de race ont reçu 0, 15, 45 ou 150 mg/kg/jour d'acyclovir, tous les jours durant les deux premières semaines d'une étude d'un an. Chaque groupe d'essai comprenait neuf mâles et neuf femelles. Les chiens recevaient des capsules de gélatine contenant les doses appropriées. Ils étaient traités trois fois par jour; ainsi, les doses administrées à intervalles réguliers étaient de 0, 5, 15 et 50 mg/kg. Les doses de 45 et de 150 mg/kg ont causé une diarrhée, des vomissements, une consommation alimentaire réduite et une perte de poids chez les mâles et les femelles pendant les deux premières semaines de l'étude. C'est pour cette raison qu'à la troisième semaine de l'étude, on a décidé de réduire les doses moyennes et élevées à 30 et 60 mg/kg/jour (10 et 20 mg/kg trois fois par jour). La dose faible de 15 mg/kg/jour (5 mg/kg trois fois par jour) n'a pas été changée. Des chiens auxquels on a administré 60 mg/kg/jour ont souffert de vomissements et de diarrhée occasionnels, mais étaient par ailleurs en bonne santé pendant la durée du test. Le gain de poids corporel et la consommation alimentaire étaient comparables à ceux du groupe de contrôle.

Durant la toxicose provoquée par l'administration des doses plus élevées d'acyclovir, les taux plasmatiques étaient très élevés [tel qu'indiqué par les valeurs moyennes initiales de 24,0 µg/mL (106,6 µM) pour les mâles recevant des doses élevées et 17,4 µg/mL (77,2 µM) pour les femelles recevant des doses élevées, déterminées une heure après la troisième dose, au premier jour de l'étude]. Calculés le 15^e jour, les taux plasmatiques de l'acyclovir chez des chiens recevant de fortes doses (150 mg/kg/jour) étaient encore très élevés, mais ils ont diminué plus tard, lorsque les doses ont été réduites. Les valeurs des taux plasmatiques après 12 mois de traitement étaient, en général, comparables à celles enregistrées après 1, 3 et 6 mois de traitement. Ainsi, il n'y avait aucune indication de métabolisme stimulé d'acyclovir à la suite du traitement chronique.

Au cours de la 13^e semaine, quelques chiens mâles et femelles qui recevaient des doses moyennes et élevées ont présenté les signes suivants : sensibilité des pattes avant, cassure et décollement des ongles. La régénération des ongles perdus a commencé quelques semaines plus tard. Les ongles étaient régénérés six mois plus tard (période à laquelle trois mâles et trois femelles de chaque groupe ont été tués pour un sacrifice intérimaire) et à la fin de l'étude, ils

étaient, en général, en bon état. Il n'y a eu aucun effet sur les pattes ou les ongles des chiens qui recevaient des doses faibles (15 mg/kg/jour).

On a admis que les lésions de l'épithélium dermique qui produit la kératine de l'ongle peuvent causer un arrêt de la production de kératine ou la formation de kératine anormale. La toxicose transitoire provoquée par d'importantes doses (45 et 150 mg/kg/jour) d'acyclovir administrées durant les deux premières semaines de l'étude pourrait avoir affecté l'épithélium dermique. S'il y avait un effet transitoire sur l'épithélium dermique (qui pourrait être relié aux effets directs ou survenir à la suite d'une maladie provoquée par le produit pendant les deux premières semaines de l'étude), il pourrait avoir pour séquelle ultérieure la perte de l'ongle. Aucun effet distinct n'a été observé sur d'autres tissus produisant ou contenant de la kératine. On devrait mettre l'emphase sur le fait que les altérations des ongles semblent être reliées à la toxicose transitoire provoquée par des doses de 50 et de 150 mg/kg/jour administrées au cours des deux premières semaines de l'étude, et non pas à des doses de 30 et de 60 mg/kg/jour administrées par la suite.

Il n'y avait aucune altération importante provoquée par l'acyclovir quant aux indices d'essais sériques biochimiques, aux examens des urines et aux essais électrocardiographiques effectués à intervalles appropriés au cours de cette étude. Les indices d'albumine sérique et de protéine totale étaient légèrement réduits chez des chiens auxquels on a administré 30 et 60 mg/kg/jour pendant 6 et 12 mois. Cependant, tous les indices de ces paramètres se situaient quand même dans les limites considérées comme normales.

À l'exception des altérations résiduelles de kératine ancienne au bout des griffes, il n'y avait aucun signe d'effet relié au traitement dans les tissus examinés au microscope classique. De plus, il n'y avait aucune altération significative des indices des organes pesés lors de l'autopsie. Donc, les doses allant jusqu'à 60 mg/kg/jour étaient bien tolérées. À l'exception de légers signes gastro-intestinaux, toutes les doses testées pendant un an ne causaient aucun effet secondaire.

Études sur la reproduction

Tératologie - Rats : L'acyclovir a été administré à des rates A.R.S. Sprague-Dawley gestantes par injection sous-cutanée pendant la période de l'organogenèse (du 6^e au 15^e jour de gestation) à des doses de 0,0; 6,0; 12,5 et 25,0 mg/kg de poids corporel, deux fois par jour.

Parmi les critères évalués pour l'effet composé, citons les données sur les poids corporels maternels, les gains de poids, l'apparence et l'attitude, les taux de survie, les changements oculaires, les taux de grossesse et les données sur la reproduction. La viabilité de la progéniture et son développement ont également été évalués.

En plus des calculs mentionnés ci-dessus, on a sacrifié des animaux désignés 1 heure après la première dose le 15^e jour, afin de prendre des échantillons de sang maternel, du liquide amniotique et des fœtus, pour calculer les concentrations du produit. Les valeurs moyennes de ces échantillons sont les suivantes :

Dose mg/kg 2 f.p.j., s.c.	Concentrations d'acyclovir		
	Plasma (µg/mL)	Liquide amniotique (µg/mL)	Homogénat fœtal ng/g (nmoles/g p/p)
6 <i>n</i> = 7	0,26 ± 0,09	0,39 ± 0,06	0,704 (3,13 ± 0,50)
12,5 <i>n</i> = 5	0,69 ± 0,20	1,13 ± 0,22	0,963 (4,28 ± 0,67)
25 <i>n</i> = 5	1,59 ± 0,55	2,0 ± 0,53	1,994 (8,64 ± 2,33)

Les valeurs plasmatiques obtenues représenteraient environ 30 % des niveaux plasmatiques initiaux selon la demi-vie plasmatique des rongeurs.

On n'a observé aucun effet attribuable à l'administration d'acyclovir quant aux valeurs de poids corporel maternel, d'apparence et d'attitude, de taux de survie, de taux de grossesse ni d'efficacité d'implantation. De plus, on n'a noté aucune différence reliée au produit quant à la taille des fœtus, le sexe et le développement.

Bien que les incidences de résorption et de viabilité fœtale se situent dans la marge de variance normale dans tous les groupes, on a noté des incidences un peu plus élevées de résorption chez les animaux recevant des doses élevées qui ont été sacrifiés aux 15^e et 19^e jours de gestation. Cependant, on n'a dégagé aucune tendance qui soit clairement reliée à la posologie du produit.

Par conséquent, l'acyclovir ne s'est pas révélé tératogène ni embryotoxique lorsqu'on l'a administré à des rats à des doses allant jusqu'à 50 mg/kg de poids corporel par jour pendant l'organogenèse.

Tératologie - Lapins : Une étude tératologique a été effectuée chez des lapins blancs de Nouvelle-Zélande, selon la même méthode expérimentale de base que pour les rats, sauf que l'administration se faisait du 6^e au 18^e jour de gestation. Également, les fœtus, le liquide amniotique et les échantillons de sang maternel ont été prélevés au 18^e jour plutôt qu'au 15^e jour.

On n'a observé aucun signe de toxicité maternelle, quelle qu'ait été la dose, mais il y avait une baisse statistiquement importante ($p < 0,05$) de l'efficacité d'implantation dans le groupe qui recevait des doses élevées. Bien qu'on ait signalé quelques monstres fœtaux dans l'étude (dans le groupe témoin et chez les animaux traités), ils n'avaient aucun lien apparent avec le traitement. Il y avait cependant une réaction apparemment reliée au produit quant au nombre de fœtus dotés de côtes surnuméraires. Aucun effet semblable n'a été observé au cours de l'étude tératologique chez les rats (voir plus haut) ni dans une expérience de reproduction-fertilité chez les souris.

On a noté la présence de concentrations d'acyclovir dans les échantillons de plasma et de liquide amniotique, aussi bien que dans des homogénats de tissus fœtaux. Tous les échantillons ont été prélevés une heure après la première dose, le 18^e jour de la gestation. Comme l'indiquent les données suivantes, les concentrations d'acyclovir dans le liquide amniotique étaient bien plus élevées que dans le plasma.

Concentrations d'acyclovir (Moyenne et erreur type)

Dose mg/kg 2 f.p.j., s.c.	Plasma ($\mu\text{g/mL}$)	Liquide amniotique ($\mu\text{g/mL}$)	Homogénat foetal ng/g (nmoles/g p/p)
6 $n = 4$	0,25 \pm 0,03	0,89 \pm 0,18	0,155 (0,69 \pm 0,13)
12,5 $n = 5$	0,25 \pm 0,05	8,03 \pm 6,37	0,207 (0,92 \pm 0,14)
25 $n = 4$	0,39 \pm 0,12*	6,16 \pm 4,25	0,315 (1,40 \pm 0,19)

* $n = 5$

Reproduction-fertilité : Une étude de reproduction-fertilité sur deux générations a été effectuée chez des souris à des doses de 50, 150 et 450 mg/kg/jour par gavage (administration aux mâles 64 jours avant l'accouplement et pendant la période d'accouplement; administration aux femelles 15 jours avant l'accouplement et continuellement pendant la gestation et la lactation). Il ne s'est produit aucun effet attribuable au médicament.

Études de toxicité dermique

Irritation dermique et toxicité systémique : Une application dermique quotidienne répétée (quatre fois par jour à quatre heures d'intervalle) d'acyclovir à 5 et à 10 % dans une base d'onguent de polyéthylène glycol (200 mg quatre fois par jour) sur la peau intacte et abrasée (10 % de surface corporelle) de cobayes pendant 23-24 jours n'a produit aucune réaction locale anormale. On a noté une réduction moyenne des lymphocytes (chez les femelles abrasées) et de la numération érythrocytaire (mâles et femelles abrasés) dans le groupe traité avec l'acyclovir à 10 %. Les concentrations plasmatiques moyennes ont révélé une variation considérable dans tous les groupes traités (soit : acyclovir à 5 %, mâle abrasé, 1,02 $\mu\text{g/mL}$ (4,51 μM), femelle abrasée, 0,4 $\mu\text{g/mL}$ (1,78 μM); onguent à 10 %, mâle abrasé, 0,54 $\mu\text{g/mL}$ (2,41 μM), femelle abrasée, 1,24 $\mu\text{g/mL}$ (5,52 μM); onguent à 10 % mâle intact, 0,9 $\mu\text{g/mL}$ (4,00 μM); femelle intacte, 0,81 $\mu\text{g/mL}$ (3,60 μM)). Les résultats indiquent que l'acyclovir appliqué comme onguent à base de PEG pénètre la barrière dermique et est absorbé dans la circulation générale.

Sensibilisation dermique : Au cours d'une expérience selon le plan de travail de Draize, l'acyclovir a fait l'objet d'essais chez des cobayes quant aux risques de sensibilisation. Du salin

et un agent sensibilisateur connu (1-chloro-2,4-dinitrobenzène) ont été administrés respectivement comme contrôles négatif et positif. Une série de dix doses sensibilisantes ont été utilisées, suivies, deux semaines plus tard, par une dose d'épreuve. Tout le matériel a été administré par voie intradermique.

Ni l'acyclovir, ni le salin n'ont produit de sensibilisation, tandis que l'agent positif a causé une sensibilisation chez les animaux traités.

Cicatrisation des plaies épidermiques : Spruance et Krueger³¹ ont fait l'essai de l'onguent d'acyclovir à 5 % dans un excipient de polyéthylène glycol afin de déterminer les effets possibles sur la cicatrisation des plaies épidermiques chez les cochons domestiques. À l'aide d'un dermatome, ils ont fait des plaies de 0,5 à 0,1 cm² X 0,3 mm de profondeur sur le dos des cochons. Les blessures ont été excisées et classées selon la cicatrisation les 4^e, 5^e et 6^e jours après le traitement par l'onguent d'acyclovir ou l'excipient de placebo.

<u>Groupe de traitement</u>	<u>Nombre de plaies cicatrisées / plaies totales</u>		
	<u>4^e jour</u>	<u>5^e jour</u>	<u>6^e jour</u>
Non traité	0/15	ND	15/15
PEG 4 f.p.j. x 5 jours	0/16	15/28*	14/14
ACV 5 % 4 f.p.j. x 5 jours	0/14	7/28*	12/16

*p = 0,03

Ils ont conclu que l'acyclovir topique causait une légère diminution du taux de cicatrisation des plaies épidermiques chez les cochons.

Études de toxicité oculaire

Irritation de l'œil : Une composition d'onguent d'acyclovir a fait l'objet d'essais quant à l'irritation de l'œil chez les lapins. Des concentrations de 1 %, 3 % et 6 % d'acyclovir dans une base de pétrolatum ont été instillées dans le sac conjonctival cinq fois par jour, à des intervalles de 90 minutes, pendant 21 jours consécutifs. Des groupes composés de huit lapins ont reçu la concentration, l'excipient et un salin équilibré. L'irritation de l'œil a été évaluée par observation macroscopique et biomicroscopique, et par des examens du fond de l'œil et des examens histologiques. Aucun de ces examens n'a révélé de risques significatifs de toxicité ophtalmique.

Pénétration oculaire : L'application d'un ruban de un cm d'onguent ophtalmique d'acyclovir à 3 % dans l'œil d'un lapin s'est traduite par des concentrations d'acyclovir dans l'humeur aqueuse de l'œil d'une importance significative tant sur le plan biologique que statistique, et ce en moins de ½ heure. Les taux maximum [valeurs moyennes de 0,48 et 0,57 µg/mL (2,15 et 2,53 µM)] ont été atteints 1 heure et 2 heures après le traitement, et étaient accompagnés d'une diminution assez marquée avant la quatrième heure [valeur moyenne de 0,13 µg/mL (0,59 µM)]. Les taux plasmatiques d'acyclovir, lorsqu'ils se trouvaient en quantités détectables, étaient inférieurs à 0,23 µg/mL (1 µM). Chez 11 des 15 lapins, les taux plasmatiques étaient inférieurs à 0,06 µg/mL (0,25 µM) (limites de détection dans la méthode d'essai).

L'étude a montré que l'acyclovir pouvait pénétrer dans la surface cornéenne et atteindre des concentrations thérapeutiques dans l'humeur aqueuse.

Cicatrisation des plaies cornéennes : Des études à double insu et contrôlées chez des lapins ont été menées pour déterminer les effets toxiques de l'acyclovir à 3 % et de l'idoxuridine (IUD) à 0,1 % sur la cicatrisation des plaies cornéennes, à des concentrations thérapeutiquement efficaces. On a conclu que l'acyclovir ne causait aucun effet nocif significatif (par rapport aux contrôles) sur la qualité de la régénération de l'épithélium ou sur la ré-épithélialisation des plaies épithéliales. Le traitement oculaire à l'IDU a causé des changements toxiques significatifs quant à la régénération de l'épithélium (sur les plans clinique et historique) avec un délai significatif de

la cicatrisation des plaies épithéliales par rapport aux contrôles ou aux yeux traités avec de l'acyclovir. L'acyclovir n'a eu aucun effet significatif sur le contenu en collagène des plaies stromales mesuré selon l'essai à l'hydroxyproline. L'IDU a causé une diminution du contenu en collagène semblable à celle des groupes de contrôle, mais bien inférieure à l'acyclovir.

Études de toxicité du développement

Rats néonataux - Étude sous-chronique : De l'acyclovir dissous dans un salin stérile à 0,4 % a été injecté par voie sous-cutanée à des rats néonataux Charles River CD (Sprague-Dawley) pendant 19 jours consécutifs, à partir du 3^e jour post-partum. Les doses étudiées étaient de 0, 5, 20 et 80 mg/kg de poids corporel. Il y avait 12 portées (composées chacune de cinq mâles et cinq femelles nouveau-nés allaités par leur mère naturelle) à chaque dose. Les mères n'étaient pas traitées. Des nouveau-nés de chaque groupe ont été pris pour l'autopsie et l'évaluation microscopique d'une grande variété de tissus, y compris les yeux et plusieurs sections du cerveau, après un traitement de 5, 12 ou 19 jours et à la suite d'une période de 3 semaines sans administration (ils étaient âgés de 45 jours à ce moment-là). Des essais hématologiques (hémoglobine, hémocrite, numération des globules rouges et blancs et numération globulaire différentielle) et des tests de laboratoire cliniques (azote uréique du sang) ont été effectués après 16 jours de traitement et répétés 18 jours après que la dernière (19^e) dose ait été administrée.

Du sang de certains nouveau-nés a été prélevé 30 minutes après le traitement les 1^{er} et 9^e jours et à la fin de la période d'administration, pour déterminer les concentrations plasmatiques d'acyclovir. La plus grande concentration plasmatique d'acyclovir était de 99,1 µg/mL (440,5 µM) calculée dans un pool de plasma prélevé de six femelles nouveau-nées qui recevaient des doses élevées (80 mg/kg) 30 minutes après l'administration de la première dose. Le traitement à l'aide de l'acyclovir n'a pas augmenté le taux de mortalité durant la période néonatale.

Les rats du groupe qui recevait de faibles doses ont pris autant de poids corporel que les rats du groupe de contrôle. Des réductions importantes ($p < 0,05$) des valeurs moyennes du poids corporel ont été notées chez les mâles et les femelles nouveau-nés qui recevaient des doses

moyennes et élevées durant la période de traitement. Les rats du groupe qui recevait des doses élevées ont partiellement compensé en prenant beaucoup plus de poids que les contrôles pendant la période de rétablissement après le traitement. Au 16^e jour du traitement, on a enregistré une hausse minime mais significative de l'azote uréique du sang chez les mâles ($p < 0,01$) et les femelles ($p < 0,05$) nouveau-nés du groupe qui recevait des doses élevées. Cette découverte pourrait avoir une importance biologique parce qu'on a trouvé des accumulations minimales de débris nucléaires dans les canaux collecteurs et dans les anses de Henle, prélevées chez des nouveau-nés qui prenaient des doses élevées après 19 jours de traitement, et examinées au microscope classique. C'était la seule période (et le rein était le seul organe) au cours de laquelle des effets minimes sur les systèmes de développement des organes ont été notés. Ainsi, il était clair que la dose de 5 mg/kg ne provoquait pas d'effet secondaire, et que la dose de 20 mg/kg causait des réductions minimales de l'accroissement du poids corporel.

L'examen macroscopique et microscopique n'a révélé aucun effet secondaire sur le développement oculaire. On devrait insister sur le fait qu'il n'y avait aucune preuve morphologique ou fonctionnelle d'effets secondaires sur le développement du cerveau ou d'autres parties du système nerveux central. Ainsi, l'acyclovir est clairement différent de la cytosine arabinoside, qui, selon les rapports, a produit une dysplasie cérébelleuse et rétinienne chez les rats nouveau-nés.

Étude de mutagénicité et autres études à court terme

L'acyclovir a fait l'objet d'études du potentiel mutagène dans bon nombre de systèmes *in vitro* : cellules cultivées L5178Y de lymphomes de souris (3 loci); cellules ovariennes cultivées (CHO) de hamsters chinois (3 loci); d'Ames Salmonella (essai sur assiettes); d'Ames Salmonella (modification avant l'incubation); essai de réparation d'ADN de Rosenkrantz *E. coli* $polA^+/ploA^-$ et la levure *S. Cerevisiae*, D-4. De plus, le produit a été testé selon l'essai de transformation néoplasique BALB/C-3T3, selon l'essai de transformation néoplasique C3H/10⁺ ½ et pour déceler la clastogénicité dans les lymphocytes humains cultivés. Tous les essais ont été effectués en présence ainsi qu'en l'absence d'activation métabolique exogène mammifère, à l'exception des essais de transformation cellulaire et de l'essai cytogénétique de lymphocytes humains.

L'acyclovir a été examiné *in vivo* au cours d'un essai à dominance létale chez des souris, et pour déceler la clastogénicité de la moelle osseuse chez les rats et les hamsters chinois.

L'acyclovir a provoqué une réponse négative lors d'essais microbiens *in vitro*. Une réponse négative a également été obtenue dans le système de loci HGPRT et le marqueur de résistance à la ouabaine d'un lymphome de souris, ainsi qu'au cours d'un essai de transformation C3H/10T/ ½ . Il a provoqué une importante réponse positive à la dose la plus élevée de l'essai de transformation cellulaire BALB/C-3T3. Une réponse modérément positive a été obtenue à des concentrations élevées lors d'un essai sur le locus TK d'un lymphome de souris. L'acyclovir a causé une brisure chromosomique des lymphocytes humains à des concentrations élevées. Aucun effet cytogénétique n'a été observé *in vivo*, même à des doses néphrotoxique (100 mg/kg), chez les rats ou les hamsters chinois. À des doses plus élevées (500 et 1 000 mg/kg), on a observé des lésions chromosomiques dans la moelle osseuse des hamsters chinois. Le résumé des divers résultats des essais est présenté ci-dessous.

Essai microbien : L'activité mutagène de l'acyclovir a été étudiée à l'aide de l'essai sur assiettes d'Ames Salmonella; de l'essai d'Ames de modification avant l'incubation; de l'essai de réparation d'ADN de Rosenkrantz *E. coli* polA⁺/polA⁻ et du *S. cerevisiae* eukaryot, D-4. Toutes les études ont été effectuées en présence et en l'absence d'activation métabolique exogène mammifère. L'acyclovir n'a provoqué de réaction positive dans aucun de ces systèmes.

Les études précédentes de Salmonella ont porté sur des concentrations extrêmement élevées, afin de provoquer un niveau toxique. Aucun effet positif n'a été observé en présence non plus qu'en l'absence d'activation métabolique exogène mammifère, à des concentrations d'acyclovir atteignant 300 mg/assiette ou 80 mg/mL.

Systèmes mammifères : L'activité mutagène de l'acyclovir a été testée dans des cellules cultivées L5178Y de lymphomes de souris, hétérozygotes au locus de thymidine-kinase (TK), en calculant le taux ascendant de mutation de carence-TK (TK^{+/-} → TK^{-/-}). Des études supplémentaires ont été effectuées sur le locus HGPRT et sur le marqueur de résistance à la ouabaine de ces mêmes cellules. Toutes les études ont été effectuées en présence et en l'absence

d'activation métabolique exogène mammifère. Le composant d'essai était mutagène au locus TK à des concentrations élevées (400-2 400 µg/mL). (En comparaison, les concentrations plasmatiques de pointe de l'acyclovir suite à l'application topique sont de 0,27 µg/mL au moins.) L'acyclovir a produit une réponse négative dans le locus HGPRT et le marqueur de résistance à la ouabaine. L'activation métabolique n'a aucunement affecté les résultats dans les locus.

Une étude de mutagénicité de l'acyclovir à chacun des trois loci (APRT, HGPRT et résistance à la ouabaine) a produit des résultats peu concluants; les réactions ne paraissaient pas reliées à la dose dans les cellules ovariennes (CHO) de hamsters chinois, avec ou sans activation métabolique exogène.

À une concentration de 50 µg/mL (222 µM) pour un temps d'exposition de 72 heures, il a été démontré que l'acyclovir entraîne une augmentation statistique de l'incidence de la transformation morphologique des foyers à la suite du traitement *in vitro* de cellules BALB/C-3T3 en l'absence d'activation métabolique exogène. Les foyers transformés morphologiquement ont grandi comme des tumeurs après avoir été transplantés dans des souris immunosupprimées, isogéniques, à peine sevrées. Le diagnostic a révélé que les tissus tumoraux étaient soit des sarcomes indifférenciés, soit des lymphosarcomes.

À des concentrations de 8 à 64 µg/mL pour un temps d'exposition de 18 heures, l'acyclovir n'a pas entraîné de transformation morphologique parmi les cellules C3H/10T ½ traitées *in vitro* en l'absence d'activation métabolique exogène.

À des concentrations de 62,5 et de 125 µg/mL pour un temps d'exposition de 48 heures, l'acyclovir n'a provoqué aucune aberration chromosomique des lymphocytes humains cultivés en l'absence d'activation métabolique exogène. À des concentrations plus élevées et plus toxiques - 250 et 500 µg/mL pour un temps d'exposition de 48 heures - l'acyclovir a entraîné une augmentation importante de l'incidence de brisures chromosomiques.

À des doses de 25 et 50 mg/kg/jour, administrées par voie i.p. pendant cinq jours consécutifs, l'acyclovir n'a pas produit d'effet à dominance létale chez les souris mâles BKA (CFLD). Il faut

également noter qu'il n'y avait aucune preuve d'effet à dominance létale chez les souris mâles et femelles Charles River CD-1 (ICR) traitées par voie orale à des doses de 50, 150 et 450 mg/kg/jour, comme l'indique le résumé sur l'étude de reproduction-fertilité menée sur deux générations.

À des doses intrapéritonéales uniques de 25, 50 et 100 mg/kg, l'acyclovir n'a provoqué aucune aberration chromosomique dans les cellules de moelle osseuse de hamsters chinois examinés 24 heures après l'administration. À des doses plus élevées (500 et 1 000 mg/kg), on a observé un effet clastogénique. (Une dose intrapéritonéale de 500 mg/kg chez des hamsters chinois a produit une concentration plasmatique de pointe de 611 µg/mL (2,72 mM), soit une concentration 2 200 fois supérieure à celle obtenue chez les humains après l'application topique recommandée.)

À des doses intraveineuses uniques de 25, 50 et 100 mg/kg, l'acyclovir n'a provoqué aucune aberration chromosomique dans les cellules de moelle osseuse de rats mâles et femelles examinés 6, 24 et 48 heures après le traitement.

Études d'immunotoxicologie

L'acyclovir a été soumis à un grand nombre d'essais immunologiques *in vitro* et *in vivo*.

Dans deux essais *in vitro* - cytotoxicité à médiation lymphocytaire et chimiotaxie de granulocytes neutrophiles - l'acyclovir n'a démontré aucun effet inhibitoire à des concentrations allant jusqu'à 135 µg/mL (600 µM). Le composant inhibait environ 50 % de la formation de rosettes à des doses de 0,9 µg/mL (4 µM).

Dans quatre essais *in vivo* chez des souris, où on calculait l'immunité à médiation cellulaire (cytotoxicité cellulaire du complément-dépendant, cytotoxicité cellulaire du complément-indépendant, hypersensibilité retardée et greffe par rapport à la réaction de l'hôte), l'acyclovir n'a démontré aucun effet inhibitoire à des doses simples allant jusqu'à 200 mg/kg administrées deux jours après une stimulation antigénique.

Quatre doses quotidiennes de 100 mg/kg/jour n'ont eu aucun effet significatif sur les plaques d'hémolysine de Jerne ni sur les anticorps circulants le 7^e jour après l'inoculation antigénique. Lorsque les plaques d'hémolysine de Jerne et les titres d'anticorps ont été examinés quatre jours après la provocation antigénique et un jour après la dernière administration du produit, 100 mg/kg n'ont démontré qu'un léger effet de suppression. Cependant, 200 mg/kg ont produit une certaine perte de poids (-2,2 g), une réduction modérée du nombre de plaques d'hémolysine de Jerne (cellules formatrices de plaques de lyse [PFC] de la rate réduites à 33 % du contrôle, PFC/10⁷ WBC à 46,5 % du contrôle). Cependant, il n'y avait qu'une légère réduction du titre d'hémagglutinine circulante (de 8,3 à 6,5) et du titre d'hémolysine circulante (de 9,5 à 8,3) à 200 mg/kg.

Des expériences chez des souris visant à déterminer si l'acyclovir potentialise l'effet d'immunosuppression de l'azathioprine quant à la formation d'anticorps ont permis de découvrir que les effets des deux produits étaient additifs, sans plus. Seule la dose de 200 mg/kg d'acyclovir a provoqué une suppression de la réponse d'anticorps lorsqu'elle était associée à de l'azathioprine à des doses dépassant 25 mg/kg.

Des études ont été menées pour évaluer l'influence de l'acyclovir *in vitro* sur la fonction des lymphocytes humains. Les effets inhibitoires sur la blastogénèse n'ont été notés que dans des essais sur les concentrations maximum de mitogènes puissants, PHA et Con A, et uniquement à des concentrations d'acyclovir dépassant 50 µg/mL (222 µM), et étaient bien moins importants chez les antigènes Monilia et tétanos toxoïdes, où la réponse blastogénique était bien moins vigoureuse. Il y avait très peu d'effet sur la cytotoxicité ou sur la production de LIF, excepté à des concentrations de 200 µg/mL (890 µM) où on a démontré qu'il y avait un effet cytotoxique direct. Ces concentrations inhibitoires sont de loin plus élevées que les taux anticipés des doses choisies pour l'application clinique, et 1 000 fois plus élevées que la concentration requise pour inhiber la multiplication du virus herpétique *in vitro*.

L'effet de l'acyclovir chez les humains a été calculé. Une concentration de 11,2 à 22,5 µg/mL (50 à 100 µM) inhibe jusqu'à un certain point la division de fibroblastes, selon le concept

expérimental et la confluence de la couche simple. Cet effet était moins important que celui causé par l'adénine arabinoside ou l'interféron leucocytaire humain lorsque ces trois agents antiviraux ont été comparés à des concentrations cliniques pertinentes. L'acyclovir a également inhibé l'incorporation de thymidine par les globules sanguins mononucléaires périphériques stimulés par la phytohémagglutinine ou par trois antigènes différents d'herpèsvirus. Une courbe linéaire de réponse au produit a été observée avec ces cellules, et leur prolifération a été inhibée à 50 % par 22,5 µg/mL (100 µM) d'acyclovir. L'inhibition a été exercée sur la prolifération des cellules-T sans effet apparent sur la libération de lymphokines ou sur la fonction monocytaire.

On devrait également mentionner qu'il n'y a aucune preuve d'effets secondaires sur le système immunitaire dans les essais détaillés sous-chroniques et chroniques chez les animaux traités plus haut dans ce résumé, à l'exception d'une hypoplasie lymphoïde survenue chez les chiens à qui on a administré des doses excessives.

Références ou bibliographie sommaire

1. Bauer DJ, Collins P, Tucker WE, Jr., Macklin AW. Treatment of experimental herpes simplex keratitis with acycloguanosine. *Br J Ophthalmol* 1979; 63(6):429-435.
2. Boulter EA, Thornton B, Bauer DJ, Bye A. Successful treatment of experimental B virus (Herpesvirus simiae) infection with acyclovir. *Br Med J* 1980; 280(6215):681-683.
3. Burns WH, Saral R, Santos GW, Laskin OL, Lietman PS, McLaren C *et al.* Isolation and characterisation of resistant Herpes simplex virus after acyclovir therapy. *Lancet* 1982; 1(8269):421-423.
4. Coen DM, Schaffer PA. Two distinct loci confer resistance to acycloguanosine in herpes simplex virus type 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980; 77(4):2265-2269.
5. Colby BM, Furman PA, Shaw JE, Elion GB, Pagano JS. Phosphorylation of acyclovir [9-(2-hydroxyethoxymethyl)guanine] in Epstein-Barr virus-infected lymphoblastoid cell lines. *J Virol* 1981; 38(2):606-611.
6. Collins P, Bauer DJ. The activity in vitro against herpes virus of 9-(2-hydroxyethoxymethyl)guanine (acycloguanosine), a new antiviral agent. *J Antimicrob Chemother* 1979; 5(4):431-436.
7. Crumpacker CS, Schnipper LE, Zaia JA, Levin MJ. Growth inhibition by acycloguanosine of herpesviruses isolated from human infections. *Antimicrob Agents Chemother* 1979; 15(5):642-645.
8. Crumpacker CS, Schnipper LE, Marlowe SI, Kowalsky PN, Hershey BJ, Levin MJ. Resistance to antiviral drugs of herpes simplex virus isolated from a patient treated with acyclovir. *N Engl J Med* 1982; 306(6):343-346.
9. De Clercq E, Descamps J, Verhelst G, Walker RT, Jones AS, Torrence PF *et al.* Comparative efficacy of antiherpes drugs against different strains of herpes simplex virus. *J Infect Dis* 1980; 141(5):563-574.
10. Douglas JM, Davis LG, Remington ML, Paulsen CA, Perrin EB, Goodman P *et al.* A double-blind, placebo-controlled trial to the effect of chronically administered oral acyclovir on sperm production in men with frequently recurrent genital herpes. *J Infect Dis* 1988 Mar; 157:588-93.
11. Elion GB, Furman PA, Fyfe JA, de Miranda P, Beauchamp L, Schaeffer HJ. Selectivity of action of an antiherpetic agent, 9-(2-hydroxyethoxymethyl) guanine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977; 74(12):5716-5720.
12. Field HJ, Darby G. Pathogenicity in mice of strains of herpes simplex virus which are resistant to acyclovir in vitro and in vivo. *Antimicrob Agents Chemother* 1980; 17(2):209-216.

13. Furman PA, St Clair MH, Fyfe JA, Rideout JL, Keller PM, Elion GB. Inhibition of herpes simplex virus-induced DNA polymerase activity and viral DNA replication by 9-(2-hydroxyethoxymethyl)guanine and its triphosphate. *J Virol* 1979; 32(1):72-77.
14. Furman PA, McGuirt PV, Keller PM, Fyfe JA, Elion GB. Inhibition by acyclovir of cell growth and DNA synthesis of cells biochemically transformed with herpesvirus genetic information. *Virology* 1980; 102(2):420-430.
15. Fyfe JA, Keller PM, Furman PA, Miller RL, Elion GB. Thymidine kinase from herpes simplex virus phosphorylates the new antiviral compound, 9-(2-hydroxyethoxymethyl)guanine. *J Biol Chem* 1978; 253(24):8721-8727.
16. Kaufman HE, Varnell ED, Centifanto YM, Rheinstrom SD. Effect of 9-(2-hydroxyethoxymethyl)guanine on herpesvirus-induced keratitis and iritis in rabbits. *Antimicrob Agents Chemother* 1978; 14(6):842-845.
17. Kern ER, Richards JT, Overall JC, Glasgow LA. Effective treatment of genital herpes simplex virus infections of mice and guinea pigs with acycloguanosine. *Abs 18th Interscience Conf Antimicrob Ag Chemother, Atlanta, Oct 1-4 1978;(Abstract#264)*.
18. Kern ER, Overall JC, Glasgow LA, de Miranda P. Optimal therapy of herpes simplex virus infections in mice with oral 9-(2-hydroxyethoxymethyl)guanine (acyclovir), in the *Human Herpesviruses - An Interdisciplinary Perspective*. Nahmias AJ, Dowdle WR, Schinazi RF (eds), Atlanta, Georgia Elsevier, New York 1981;673-674.
19. McLaren C, Sibrack CD, Barry DW. Spectrum of sensitivity of acyclovir of herpes simplex virus clinical isolates. *Am J Med* 1982; 73(1A):376-379.
20. Naib ZM, Nahmias AJ, Josey WE, Zaki SA. Relation of cytohistopathology of genital herpesvirus infection to cervical anaplasia. *Cancer Res* 1973; 33(6):1452-1463.
21. Oosterhuis JA, Versteeg J, Kruit PJ, Postma BH. Aciclovir treatment in experimental herpetic keratitis in rabbits. *Ophthalmic Research* 1980; 12(1):38-44.
22. Park NH, Pavan-Langston D, McLean SL, Albert DM. Therapy of experimental herpes simplex encephalitis with aciclovir in mice. *Antimicrob Agents Chemother* 1979; 15(6):775-779.
23. Pavan-Langston D, Campbell R, Lass J. Acyclic antimetabolite therapy of experimental herpes simplex keratitis. *Am J Ophthalmol* 1978; 86(5):618-623.
24. Quinn RP, de Miranda P, Gerald L, Good SS. A sensitive radioimmunoassay for the antiviral agent BW248U [9-(2-hydroxyethoxymethyl)guanine]. *Anal Biochem* 1979; 98(2):319-328.
25. Schaeffer HJ, Gurwara S, Vince R, Bittner S. Novel substrate of adenosine deaminase. *J Med Chem* 1971; 14(4):367-369.
26. Schaeffer HJ, Beauchamp L, de Miranda P, Elion GB, Bauer DJ, Collins P. 9-(2-hydroxyethoxymethyl) guanine activity against viruses of the herpes group. *Nature* 1978; 272(5654):583-585.

27. Schnipper LE, Crumpacker CS. Resistance of herpes simplex virus to acycloguanosine: role of viral thymidine kinase and DNA polymerase loci. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980; 77(4):2270-2273.
28. Shiota H, Inoue S, Yamane S. Efficacy of acycloguanosine against herpetic ulcers in rabbit cornea. *Br J Ophthalmol* 1979; 63(6):425-428.
29. Sibrack CD, Gutman LT, Wilfert CM, McLaren C, St Clair MH, Keller PM *et al.* Pathogenicity of acyclovir-resistant herpes simplex virus type 1 from an immunodeficient child. *J Infect Dis* 1982; 146(5):673-682.
30. Spruance SL, Krueger GG. Effect of topical acyclovir on epidermal wound healing in pigs. *Clinical Research* 1981; 29(1):82a.
31. Tenser RB, Miller RL, Rapp F. Trigeminal ganglion infection by thymidine kinase-negative mutants of herpes simplex virus. *Science* 1979; 205(4409):915-917.
32. Wade JC, Newton B, McLaren C, Flournoy N, Keeney RE, Meyers JD. Intravenous acyclovir to treat mucocutaneous herpes simplex virus infection after marrow transplantation: a double-blind trial. *Ann Intern Med* 1982; 96(3):265-269.