



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

جامعة الاخوة منتوري Constantine

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Biochimie Moléculaire et santé*

Intitulé :

Hépatotoxicité de l'isoniazide : intérêt du suivi thérapeutique

Présenté et soutenu par : khanfri soumia

Le : 11-06-2016

Tehami manel

Jury d'évaluation :

Président du jury : NAUADRI TAHAR (MCA -UFM Constantine)

Rapporteur : BELMAHI (MC-UFM Constantine)

Examineur : HABIBATNI ZINEB (MCB -UFM Constantine)

Année universitaire

2015– 2016

Dédicaces

A ma mère Souad

*Tu m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir.
Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance
que je te porte.*

A mon père Ammar

*Tu es l'épaule solide, l'oeil attentif compréhensif et la personne la plus digne
de mon estime et
mon respect.*

A Mes chers frères et Mes adorables sœurs

*Mohamed, Halima, Soumia Mustapha, et ma petite Jiji vous m'avez soutenu
tout le long de
mon parcours, vous étiez à mes côtés dans les moments les plus difficiles pour
me donner du
Courage et de l'amour, merci.*

TEHAMI Manel

Dédicaces

A ma mère Fatima

*pour sa tendresse, son amour son affection, sa patience, et ces valeureux conseil
durant mes années d'étude.*

A mon très cher mari Zakaria

*Quand je t'ai connu, j'ai trouvé l'homme de ma vie, mon âme sœur et la
lumière de mon chemin.*

*Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel, ta gentillesse sans égal, ton
profond attachement m'ont permis de réussir mes études.*

*Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour.
Que dieu réunisse nos chemins pour un long commun serein et que ce travail
soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.*

A mon cher fils précieux Barae

A mes chers frères

A tous mes chères amis et mes collègues.

KHANFRI Soumia

A Monsieur le Docteur BELMAHI

*Nous vous adressons nos remerciements sincères
pour nous avoir assuré une bonne formation tout
au long de l'année.*

*Grâce à vos compétences et votre générosité nous
avons acquis des enseignements solides
et bénéfiques pour la suite de notre parcours,
aussi bien sur le plan théorique que pratique.*

Nous vous serons éternellement reconnaissantes.

*Recevez l'expression de notre gratitude
et notre profond respect.*

Remerciements

Un grand merci du fond de cœur aux assistantes *TehamiSoumia, Mahdjoub Meriem, Macheri Iman et YamounAssia.*

J'associe à ces remerciement l'équipes du laboratoire de toxicologie de la faculté de pharmacie : *Mourad, Saïda, ManeletRayen.*
Et sans oublier toute les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travaille.

Un grand merci accompagné de notre profond respect et notre gratitude envers les professeurs de département de biologie animale ; pour leur orientation et leurs conseils éclairés durant les cinq années.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|-------------|
| LISTE DES FIGURES | viii |
| LISTE DES TABLEAUX | viii |
| LISTE DES ABREVIATIONS | viii |
| INTRODUCTION | 2 |
| PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE | |
| CHAPITRE I : HEPATOTOXICITE | |
| I. 1. Foie | 5 |
| | 5 |
| I. 1. 1. Structure | |
| I. 1. 2. Fonctions hépatiques | 8 |
| I. 2. Vulnérabilité du foie | 10 |
| I. 3. Mécanismes d'hépatotoxicité | 11 |
| I. 3. 1. Toxicité directe « intrinsèque, obligatoire, prévisible » | 12 |
| I.3.2.Toxicité indirecte « facultative, imprévisible, immunoallergique, idiosyncrasique » | 13 |
| I. 4. Atteintes hépatiques médicamenteuse | 13 |
| I. 5. Evaluation biologique de l'hépatotoxique | 15 |
| CHAPITRE II : HEPATOTOXICITE INDUITE PAR L'ISONIAZIDE | |
| II.1. Isoniazide | 17 |
| II.1.1. Structure | 17 |
| II.1.2. Formes pharmaceutiques de l'isoniazide | 17 |
| II.1.3. Propriétés physico-chimiques | 17 |
| II.1.4. Toxicocinétique | 18 |
| II.1.6. Mécanisme d'action pharmacologique | 21 |
| II.1.7. Interactions médicamenteuses | 22 |
| II.2. Mécanisme de l'induction de l'hépatotoxicité | 23 |
| II. 3. Suivi thérapeutique des patients traités par l'isoniazide | 24 |

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I : Echantillonnage.

| | |
|--|----|
| I-1. Modalités d'échantillonnage : | 28 |
| Population étudiée | |
| I-1.1. Critères d'inclusion et critères de non inclusion | 28 |
| I-1.2. Fiches de renseignement | 28 |
| I-2. Modalités de prélèvement | 29 |

CHAPITRE II : Matériel et méthode.

| | |
|---|----|
| II.1. Matériel | 31 |
| II.2. Méthodologie analytique du dosage de l'isoniazide | 34 |
| II.3. Analyse des paramètres biochimiques | 41 |

CHAPITRE III : Résultats.

| | |
|--|----|
| III-1-1. Principales données des patients | 43 |
| III-1-2. Caractéristiques sociodémographiques de la population | 43 |
| III-1-3. Résultats du dosage de l'isoniazide | 44 |
| III-1-4. Résultats du bilan biochimique | 45 |

CHAPITRE IV : Interprétations

| | |
|---|----|
| IV-1. Interprétation du taux d'isoniazide par rapport à la CMI | 47 |
| IV-2. Interprétation du bilan biochimique par rapport aux concentrations del'isoniazide | 47 |

| | |
|---------------------|----|
| CONCLUSION GENERALE | 50 |
|---------------------|----|

| | |
|---------------|----|
| BIBLIOGRAPHIE | ix |
|---------------|----|

ANNEXES

LISTE DES FIGURES

| | |
|---|-----------|
| Figure1 : Représentation schématique du foie | 5 |
| Figure2: Vascularisation du foie | 5 |
| Figure3 : Représentation schématique des lobules hépatiques (à gauche un lobule entier et à droite une coupe transversale) | 6 |
| Figure4 : Représentation schématique du premier passage hépatique | 7 |
| Figure5 : Représentation schématique du métabolisme des xénobiotiques | 10 |
| Figure6 : représentation schématique du cycle entéro-hépatique | 11 |
| Figure7 : structure de l'isoniazide | 11 |
| Figure8 : Les différentes voies de métabolisation de l'isoniazide chez l'Homme | 17 |
| Figure9 : Formation de métabolites hépatotoxiques | 19 |
| | |
| Figure10 : Fiche de renseignement INH | 29 |
| Figure11 : Appareillage d'HPLC du laboratoire de biochimie-CHU Constantine | 33 |
| Figure12 : Appareil d'HPLC | 34 |
| Figure13 : Courbe d'étalonnage | 37 |
| Figure 14: Courbe d'étalonnage finale | 38 |
| | |
| Figure15 : Répartition des patients en fonction de l'âge | 43 |
| Figure16 : Répartition des patients selon le sexe | 44 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|-----------|
| Tableau1 : Marqueurs biochimiques de l'hépatotoxicité | 15 |
| Tableau2 : propriétés physicochimiques de l'INH | 18 |
| Tableau 3: Sujets acétyleurs rapides et acétyleurs lents | 20 |
| Tableau4: Calcul du rendement d'extraction | 36 |
| Tableau5 : Préparation des dilutions pour la courbe d'étalonnage | 37 |
| Tableau6 : surfaces de pics des points de la courbe d'étalonnage | 37 |
| Tableau7 : Recouvrement moyen | 39 |
| Tableau8: Biais relatif | 39 |
| Tableau9: Estimateurs (écarts types et CV) de la fidélité des trois courbes d'étalonnage | 40 |
| Tableau10 : Valeurs des pentes pour les 3 jours de validation | 40 |
| Tableau11: Principales informations des patients | 43 |
| Tableau12 : Concentrations de l'isoniazide chez les patients | 44 |
| Tableau13: Résultats du bilan biochimique | 45 |

LISTE DES ABREVIATIONS

| | |
|-------------------|--|
| Cellule NK | Cellules tueuses naturelles. |
| CYP | Cytochrome. |
| CYP450 | Cytochrome P450. |
| OH | Hydroxyle. |
| LDH | lactate déshydrogénase. |
| ADN | acide désoxyribonucléique. |
| mg | milligramme. |
| VLDL | lipoprotéine de très faible densité. Verylowdensity lipoprotéine. |
| HDL | lipoprotéine de base densité, lowdensity lipoprotéine. |
| YGT | gamma glutamyltransférase. |
| INH | L'isoniazide. |
| NAT2 | N-acétyltransférase. |
| CMI | concentration minimale inhibitrice. |
| CHUC | centre hospitalo-universitaire de Constantine. |
| CTX | service de maladies infectieuses. |
| HPLC | chromatographie liquide haute performance. |
| CV | coefficients de variation. |
| P.ALC | Phosphatase alcaline. |

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le foie est la cible la plus habituelle des atteintes toxiques. Les pathologies hépatiques d'origine médicamenteuse sont fréquentes, polymorphes dans leur présentation et de diagnostic facile ou difficile, la difficulté relevant souvent de l'incertitude quant à l'existence d'une relation de cause effet entre la pathologie observée et la prise de l'une ou l'autre substance médicamenteuse.

L'hépatotoxicité peut être occasionnée par plusieurs médicaments y compris les médicaments pour traiter la tuberculose. La tuberculose représente un problème majeur de santé publique en Algérie.

Le traitement de la tuberculose est bien codifié selon les recommandations de l'OMS et adapté en fonction des situations particulières de chaque pays. En Algérie, l'isoniazide figure dans la liste des médicaments antituberculeux essentiels.

Le suivi thérapeutique pharmacologique de l'isoniazide est nécessaire en raison de l'existence d'un polymorphisme génétique de l'acétylation et de l'association aux inducteurs enzymatiques.

L'objectif de ce travail a été d'évaluer la place du dosage de l'isoniazide, marqueur du phénotype d'acétylation, afin d'éviter un sous-dosage (inefficacité thérapeutique) ou un sur-dosage avec apparition de signe de toxicité.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE



CHAPITRE I : HEPATOTOXICITE

I. 1. Foie:

I. 1. 1. Structure:

A). Généralité :

Le foie avec un poids de 1300-1500g représente l'organe interne le plus volumineux du corps humain. Il est localisé au niveau de l'abdomen, sous le diaphragme (région hypochondriaque droite et épigastrique)[1].

Le foie a la forme d'un demi-ovoïde, orienté transversalement. La partie droite est la plus volumineuse et de forme arrondie (lobe droit). La partie gauche est aplatie et effilée à son extrémité (lobe gauche). La vésicule biliaire est attachée au foie à la limite du lobe droit. (Figure1)[2].

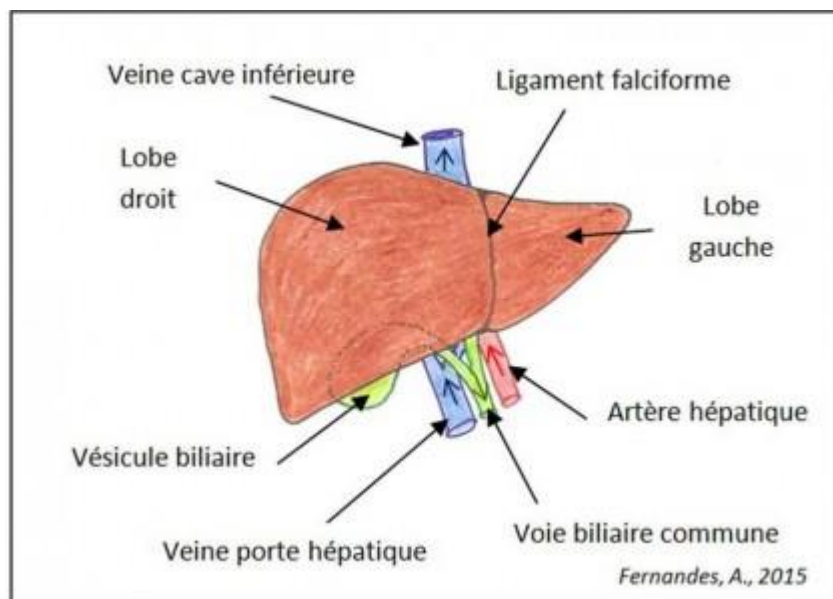


Figure1 : Représentation schématique du foie.

B). Vascularisation :

Le flux sanguin hépatique, comporte deux fractions :

- sang veineux d'origine splanchnique par la veine porte (2/3 du débit)

- sang artériel par l'artère hépatique (1/3 du débit).

La veine porte et l'artère hépatique se ramifient et pénètrent dans le parenchyme, regroupées dans des formations appelées « espaces portes ». Ces espaces portes comprennent un rameau de la veine porte, un rameau de l'artère hépatique et un canal biliaire, le tout entouré d'une lamelle d'hépatocytes appelée « lamelle limitante » (Figure2)[3].

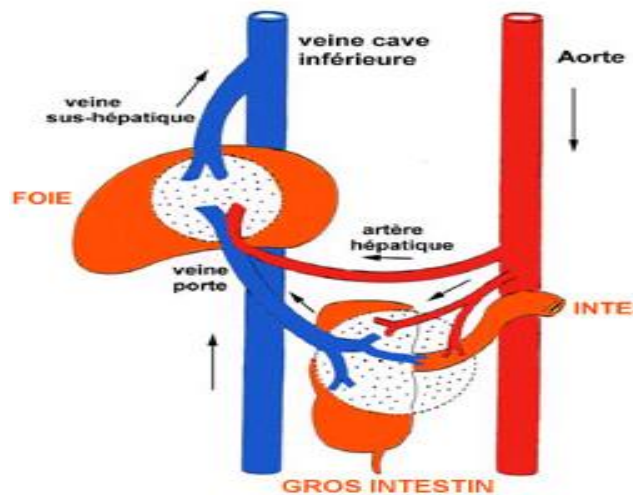


Figure2: Vascularisation du foie.

C). Organisation histologique :

Le foie est formé de deux principaux types de cellules :

- les hépatocytes (cellule parenchymateuse) qui représentent environ 75% des cellules ;
- les cellules bordantes des sinusoides ou cellules littorales représentant 25% des cellules ; parmi lesquelles on distingue : les cellules sinusoides, les cellules de Kupffer (macrophages) et les cellules étoilées du foie.

a) Hépatocyte :

Ils sont très riches en organites intracellulaires tels l'appareil de Golgi, les réticulums endoplasmiques lisses et granulaires, les mitochondries et contiennent d'abondants grains de glycogène. Cette richesse en organites cytoplasmiques témoigne d'une grande activité métabolique[4].

b) Cellules endothéliales capillaires, sinusoides :

Les cellules endothéliales et les hépatocytes sont séparés par l'espace de Disse. Le rôle des cellules endothéliales est d'empêcher le sang de s'immiscer dans l'espace de Disse assurant aux hépatocytes

un accès facile aux nutriments et aux macromolécules du plasma. Les cellules endothéliales interviennent aussi dans l'endocytose de molécules et de particules[4].

c) Cellules de Kupffer :

Il s'agit de macrophages résidents qui, situés à l'intérieur de sinusoïde, parmi leurs principales fonctions se trouvent la phagocytose des hématies, des leucocytes âgées, de particules étrangères, l'élimination d'endotoxines bactériennes et d'autres substances nocives (particules minérales ou virales...)[4].

d) Cellule étoilée du foie :

Egalement dénommée cellule de Ito ou cellule péricapillaire riche en graisses. La cellule de Ito a pour fonctions : le stockage de la vitamine A dans leurs lipides intracytoplasmiques et la synthèse de la matrice extracellulaire hépatique jouant ainsi un rôle important dans la fibrose hépatique [4].

e) Les cellules à granulation, (Cellule de Pit) :

Qui représentent les cellules les moins nombreuses de la paroi sinusoidale, sont de gros lymphocytes granuleux qui agissent comme cellules tueuses naturelles (NK)[4].

Les lobes du foie comprennent un grand nombre de lobules. Ces lobules hépatiques sont organisés autour d'une veine centrale, et séparés entre eux par des espaces portes contenant des canaux biliaires, des petites branches de la veine porte et de l'artère hépatique. Les lobules ont une forme hexagonale et sont constitués de travées cellulaires de 20 à 25 hépatocytes, reliées entre elles en délimitant des lacunes hépatiques à l'intérieur desquelles cheminent les sinusoides hépatiques (Figure 3)[4].

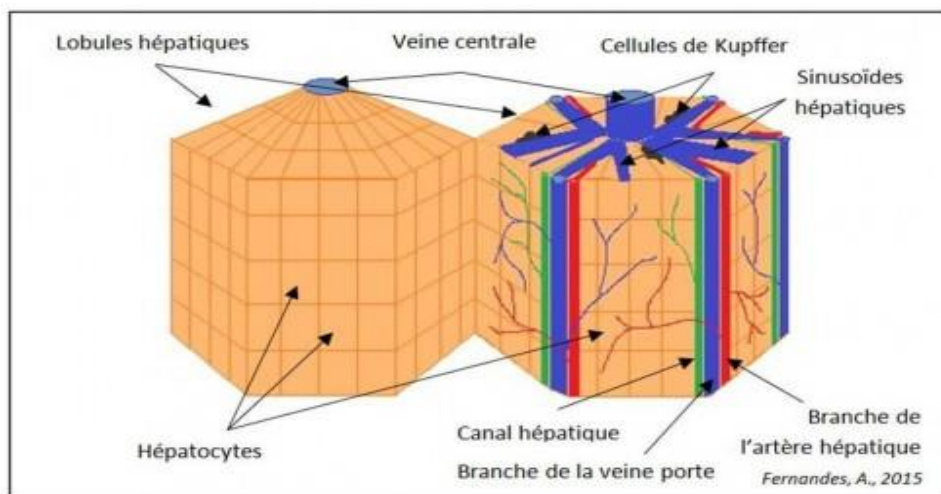


Figure3 : Représentation schématique des lobules hépatiques (à gauche un lobule entier et à droite une coupe transversale).

Le lobule hépatique est organisé en 3 zones THÉORIE DE RAPPAPORT : division des lobules en 3 zones selon:

-Différences des concentrations en oxygène et en nutriments dans le sang ;
-Différences de potentiel métabolique des hépatocytes.

1. zone péri-portale :

- Sang riche en O₂ (9-13%) et nutriments ;
- Mitochondries nombreuses.

2. zone intermédiaires.

3. zone Centro lobulaire :

- Sang pauvre en O₂ (5%) et nutriments ;
- Mitochondries petites ;
- Réticulum endoplasmique abondant (CYP450) ;
- Pauvre en glutathion.

—————→ Susceptibilité spécifique de la zone 3(CL) aux xénobiotiques[3].

I. 1. 2. Fonctions hépatiques :

Le foie exerce plusieurs fonctions physiologiques (métaboliques, immunitaires, digestives et de biotransformation) essentielles au bon fonctionnement de l'organisme, et un dysfonctionnement de cet organe peut mener à la mortalité. La plupart s'avèrent prises en charge par les hépatocytes, mis à part les fonctions immunitaires, qui sont attribuées aux cellules de Pit et de Küpffer[5].

A) .Organe de synthèse :

- Synthèse protéique : L'albumine, les protéines de l'inflammation et les facteurs de coagulations ;
- Synthèse lipidique : Cholestérol, les triglycérides et la formation de lipoprotéines (VLDL, HDL) ;
- Synthèse glucidique : La formation de glycogène et la formation de glucose à partir d'acides aminés ;

Synthèse des corps cétoniques. [3]

B) .Organe de détoxification :

Captation, dégradation ou détoxification de composés circulants.

- Déchets endogènes :
 - Elimination de l'ammoniaque (NH_4^+) principal déchet toxique résultant du catabolisme des protéines.
 - Métabolisme de la bilirubine : La bilirubine est le produit de dégradation de l'hème.
 - Métabolisme des xénobiotiques :

Processus hépatiques de détoxification des composés xénobiotiques impliquant des réactions :

- De phase I : oxydation, réduction, hydrolyse.
- De phase II : conjugaison (formation de métabolite plus polaire, facilement excrétable).

Dans certains cas, les réactions de biotransformation aboutissent à une bioactivation du xénobiotique, augmentant ainsi sa toxicité. [3].

C) .Organe de production de la bile :

Les hépatocytes élaborent et sécrètent la bile, liquide jaunâtre et légèrement alcalin composé essentiellement d'eau, d'ions, d'acides et de sels biliaires, de cholestérol et de la bilirubine Les acides et les sels biliaires participent à l'émulsification des lipides alimentaires et des vitamines liposolubles, facilitant ainsi leur digestion par les lipases pancréatiques et leur absorption. [6]

D) .Autres fonctions du foie :

- Phagocytose : Les cellules de Kupffer, ou cellules réticuloendothéliales étoilées, phagocytent les globules rouges et les globules blancs usés ainsi que certaines bactéries.
- Stockage : le foie est un des principaux sites de stockage de certaines vitamines (A, B12, D, E et K) et de certains minéraux (fer et cuivre).
- Le foie fœtal : Durant la période fœtale le foie assure également une fonction hématopoïétique[3].

I. 2. Vulnérabilité du foie :

Le foie est une cible fréquente des toxiques pour plusieurs raisons :

- 1) Le foie est la glande la plus volumineuse de l'organisme qui a le plus fort débit sanguin (1200mL/min), la plupart des toxiques pénètrent dans l'organisme par le tube digestif, et après absorption, sont transportés par la veine porte vers le foie (effet de premier passage hépatique) donc il y a une arrivée massive des xénobiotiques dans le foie et par conséquence une concentration élevée des toxiques à ce niveau. (Figure4)[3].

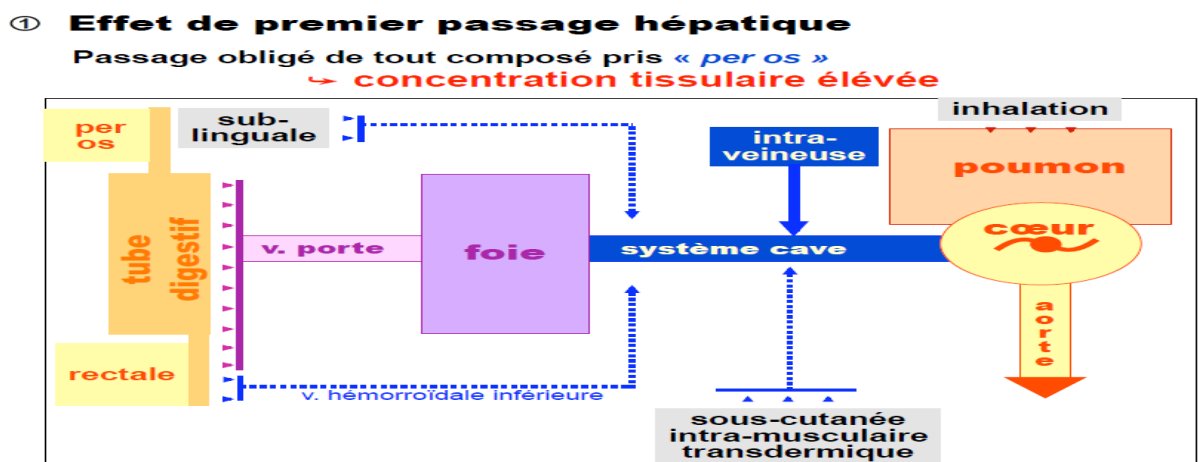


Figure4 : Représentation schématique du premier passage hépatique .

- 2) Le foie a une forte concentration en sites de liaisons et en enzymes de métabolisation des xénobiotiques (principalement les cytochromes P-450) qui rendent les toxiques moins actifs et plus hydrosolubles donc plus facilement excrétables, cependant certains toxiques nécessitent une bioactivation(Figure5).

La localisation souvent centrolobulaire des lésions hépatiques a été attribuée à la plus forte concentration locale en cytochrome P-450 avec la concentration faible en glutathion[3].

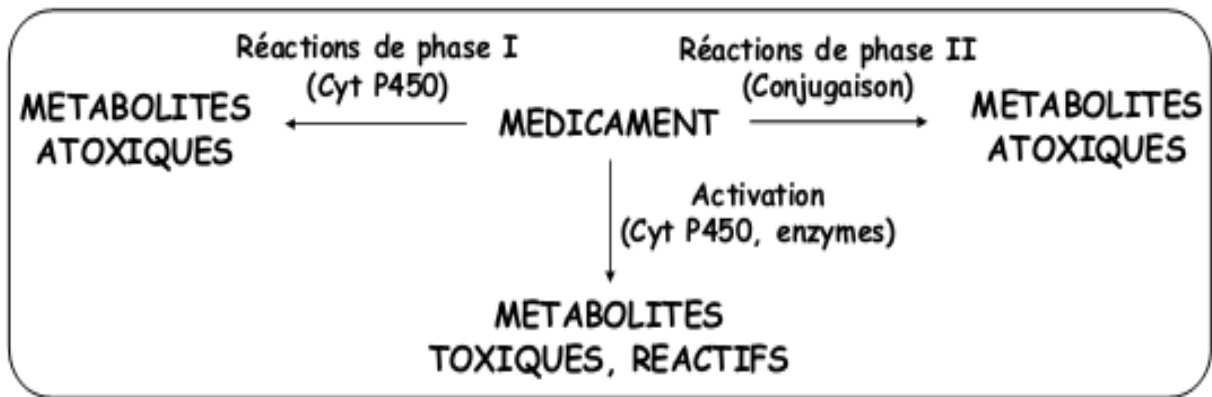


Figure5 : Représentation schématique du métabolisme des xénobiotiques.

3) Cycle entéro-hépatique :

Processus par lequel un xénobiotique éliminé par voie biliaire peut être à nouveau résorbé à son arrivée dans le duodénum et rejoindre la circulation générale, ce phénomène intervient pour des principes actifs ayant une excrétion biliaire. Ce recyclage conduit à une augmentation de l'exposition du foie aux xénobiotiques(Figure6)[7].

Cycle entéro-hépatique :



Figure6 : représentation schématique du cycle entéro-hépatique.

I. 3. Mécanismes d'hépatotoxicité :

La toxicité hépatique est le plus souvent due à la transformation des xénobiotiques en des métabolites réactifs toxiques. Habituellement, ces métabolites réactifs sont facilement détoxifiés par différents systèmes de protection. Lorsque ces mécanismes sont insuffisants, les métabolites réactifs peuvent se lier de façon covalente sur certains constituants des hépatocytes entraînant la mort cellulaire en interférant surtout avec l'homéostasie cellulaire ou en déclenchant des réactions immunologiques.

Les lésions hépatiques induites par une substance médicamenteuse ou chimique se divisent en deux catégories :

- L'hépatotoxicité directe : intrinsèque, obligatoire, prévisible.
- L'hépatotoxicité indirecte : facultative, imprévisible, immunoallergique, idiosyncrasique [7].

I. 3. 1. Toxicité directe « intrinsèque, obligatoire, prévisible » :

L'effet toxique est lié à :

- La substance elle-même ;
- Un de ses métabolites «réactifs».

Ce type d'hépto-toxicité se rencontre principalement avec :

- Les produits chimiques professionnels, domestiques ou environnementaux.
- Les médicaments : Méthotrexate (chimiothérapie), paracétamol (au-delà des doses thérapeutiques), **isoniazide**....

La toxicité prévisible a les caractéristiques suivantes:

- Elle est dose-dépendante ;
- La réadministration entraîne une récurrence dans un délai comparable à celui de l'atteinte initiale ;
- Les lésions sont reproductibles chez l'animal
- Le risque est généralement augmenté par une induction enzymatique;
- Les signes d'hypersensibilité sont absents.

Les métabolites réactifs peuvent être :

- Des métabolites réactifs électrophiles ;
- Radicaux libres[8].

A).Métabolites réactifs électrophile:

Le métabolite réactif électrophile peut se fixer par liaison covalente irréversible sur :

- ADN : l'alkylation d'une base purique ou pyrimidique.

Si elle n'est pas réparée, elle peut conduire à une mutation et à un cancer.

- Groupements fonctionnelles des protéines nucléophiles :

SH d'une cystéine, NH₂ d'une lysine ou arginine, S d'une méthionine, NH d'une histidine

Si elle n'est pas réparée, elle peut conduire à une inactivation des enzymes, des protéines de transport et des protéines régulatrices[3].

B).Radicaux libres:

Les radicaux libres se lient de façon irréversible aux macromolécules hépatiques (protéines, lipides insaturés). La neutralisation de ces radicaux se fait soit par des systèmes enzymatiques :

superoxydedismutase, catalase, glutathion peroxydase ou par des systèmes non enzymatiques : vitamine C, E.

Ces systèmes de protection peuvent être dépassés et ces radicaux peuvent entraîner un stress oxydant :

- Peroxydation lipidique ;
- Perturbation fonctionnelle des protéines ;
- Lésion du matériel génétique[3].

I.3.2.Toxicité indirecte « facultative, imprévisible, immunoallergique, idiosyncrasique » :

- L'effet toxique de la substance est Imprévisible, et d'ordre immunologique ;
- La réaction classique d'idiosyncrasie s'accompagne de phénomènes d'hypersensibilité; visible que lors de la seconde exposition et s'associe à de la fièvre, une éosinophilie, des arthralgies et un exanthème ;
- De nombreux xénobiotiques sont responsables d'atteintes hépatiques imprévisibles dues à l'idiosyncrasie de l'hôte qui est incapable individuellement de tolérer ce produit[9].

I. 4.Atteintes hépatiques médicamenteuse :

I. 4. 1. Stéatose hépatique :

Elle consiste en l'accumulation de lipides (triglycérides) dans le cytoplasme des hépatocytes.

Aspect macroscopique : Foie gras, mou, jaunâtre, extrémités arrondies, aspect soyeux.

Aspect microscopique : Accumulation de lipides dans les hépatocytes sous forme de vacuoles, on a deux types de stéatose :

- La stéatose macro vacuolaire consiste en la présence d'une goutte de graisse unique refoulant le noyau de l'hépatocyte en périphérie. Elle régresse à l'arrêt de l'intoxication. Elle n'a pas de retentissement clinique en l'absence d'hépatite associée.
Exemple : début d'éthylisme chronique.
- La stéatose micro vésiculaire est classiquement plus grave. Elle est caractérisée par l'accumulation de multiples gouttelettes lipidiques de petites tailles disséminées dans le cytoplasme de l'hépatocyte. Quand elle est étendue, elle peut s'accompagner d'une insuffisance hépatique et être d'évolution fatale.Exemple : acide Valproïque[10].

I. 4. 2. Cholestase :

Lésion hépatique qui provoque la suppression ou l'interruption de l'écoulement de la bile, elle détermine des hépatites aiguës cholestasiques avec :

- Augmentation de la bilirubine et des acides biliaires sériques ;
 - Apparition d'ictère.
- Extra hépatiques: (stase biliaire)

L'inflammation ou le colmatage du cholédoque.

- Rétention sels biliaires et l'accumulation de bilirubine ;
 - Ictère.
- Intra hépatiques: (hépatocellulaire)

Changements de la perméabilité membranaire des hépatocytes ou des canalicules biliaires (Perturbation de la formation de la bile)[11].

I. 4. 3. Cirrhose :

Maladie chronique caractérisée par le dépôt du collagène dans tout le foie souvent de causes toxiques. On assiste à une restriction sévère dans la circulation du sang, les processus métaboliques normaux et de détoxification du foie qui peuvent mener à une insuffisance hépatique.

L'éthanol est la cause la plus importante de la cirrhose [12].

I. 4. 4. Hépatite:

Inflammation du foie habituellement d'origine virale mais peut être induite par des produits chimiques.

A).Hépatites aiguës :

Différentes formes (selon bilan fonctionnel) :

- Hépatites cytolytiques ;
- Hépatites cholestasiques ;
- Hépatites mixtes.

- Hépatites cytolytiques: les plus sévères, formes fulminantes mortelles.

C'est une nécrose hépatocytaire, avec parfois inflammation et/ou stéatose.

Agents responsables : Paracétamol (surdosage), α méthyle dopa, **isoniazide**, halothane (par un mécanisme immunitaire), kétoconazole.

- Hépatites cholestasiques : lésion principale = cholestase.

Agents responsables : phénothiazines (largactil ...), contraceptifs oraux (oestrogènes), stéroïdes anabolisants

- Hépatites mixtes : les plus fréquentes

Agents responsables : amitriptyline, phalloïdine [13].

B).Hépatites chroniques :

Lésions nécrotiques et inflammatoires extensives, ces lésions sont réversibles à l'arrêt de l'exposition au toxique.

Agents responsables : éthanol, paracétamol, **isoniazide**[14].

I. 5. Evaluation biologique de l'hépatotoxique :

Les différentes lésions hépatiques sont plus ou moins sévères ; Les dosages biologiques mettent en évidence une augmentation de certains éléments du sang, les phosphatases alcalines et la bilirubine, souvent les transaminases (Tableau 1).

Une échographie abdominale est d'abord pratiquée pour la recherche de la cause [15].

Tableau 1 : Marqueurs biochimiques de l'hépatotoxicité.

| Lésions | analyse biochimique |
|------------------------|--|
| Cytolyse | Augmentation des transaminases (> 100 UI) TGP et TGO Augmentation des LDH (lactate déshydrogénase) Augmentation des OCT (ornithine carbamyl transférase) |
| Cholestase | Augmentation des PAL Augmentation de la bilirubine, cholestérol, sels biliaires |
| Carcinome | Augmentation de α -foetoprotéine |
| Insuffisance hépatique | Diminution de la prothrombine et de l'albumine sérique Augmentation des transaminases, PAL, BC, γ GT |

CHAPITRE II.
HEPATOTOXICITE INDUITE PAR
L'ISONIAZIDE

CHAPITRE II : HEPATOTOXICITE INDUITE PAR L'ISONIAZIDE

II.1.Isoniazide :

II.1.1.Structure :

L'isoniazide (INH) est un dérivé de l'acide isonicotinique, actif sur les bacilles tuberculeux intra et extracellulaire.

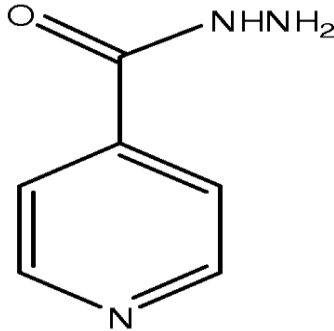


Figure7 : structure de

l'isoniazide.

Nom systématique : hydrazide

(II)

de

l'acide

4-

pyridinecarboxylique = hydrazide de l'acide isonicotinique, il a une action bactéricide sur *Mycobacterium tuberculosis* [16].

II.1.2.Formes pharmaceutiques de l'isoniazide :

L'isoniazide existe seul ou en association.

- Seul : en comprimés de 50mg ou 150mg, ou en solution injectable à 500mg/5mL
- En association à la rifampicine, ou à la pyrazinamide.

II.1.3.Propriétés physico-chimiques :

L'isoniazide se présente sous forme de cristaux blancs ou incolores ou de poudre cristalline blanche.

Il est inodore et s'altère lentement lorsqu'il est exposé à l'air et à la lumière.

Il est très soluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool, légèrement soluble dans le chloroforme et très légèrement soluble dans l'éther [16].

Les propriétés physicochimiques de l'INH sont résumées dans le tableau 2:

Tableau 2: propriétés physicochimiques de l'INH.

| Dénomination Commune | Formule Brute | Poids moléculaire g/mol | Point de fusion | pKa |
|-------------------------|--|-------------------------------|-----------------|-------------------------------------|
| Isoniazide | C ₆ H ₇ N ₃ O | 137,14 | 170 à 173 °C | pKa1=2 ; pKa2=3,6 ; pKa3=10,8 |

II.1.4. Toxicologie Cinétique :

A). Absorption :

Après administration orale, à jeun, l'absorption digestive est complète ; le pic plasmatique est obtenu en 1 à 2 heures [17].

B). Distribution :

L'isoniazide n'est que faiblement lié aux protéines plasmatiques.

La diffusion est large dans tout l'organisme, notamment dans le liquide pleural, le liquide d'ascite ou le LCR. L'INH franchit la barrière placentaire et diffuse dans le lait maternel. Il faut noter qu'une meilleure concentration de l'isoniazide se retrouve au niveau des zones inflammatoires de l'organisme [17,18].

C). Métabolisme :

Le métabolisme de l'INH est hépatique et aboutit à des composés pour la plupart inactifs.

La voie principale est l'acétylation, essentiellement hépatique et plus faiblement intestinale. Ainsi, la N-acétyltransférase (NAT2) catalyse la biodégradation de l'isoniazide pour donner naissance à la N-acétylisoniazide qui, à son tour va se métaboliser en acide nicotinique et acétylhydrazine.

Ce dernier produit va à son tour subir une série d'acétylations pour entraîner la formation de métabolites réactifs, toxiques pour les cellules hépatiques avec fixation sur les protéines pour donner des adduits aux protéines hépatiques.

Une faible partie de l'INH est transformée directement en hydrazine, L'hydrazine serait également responsable de l'hépatotoxicité de l'INH [19].

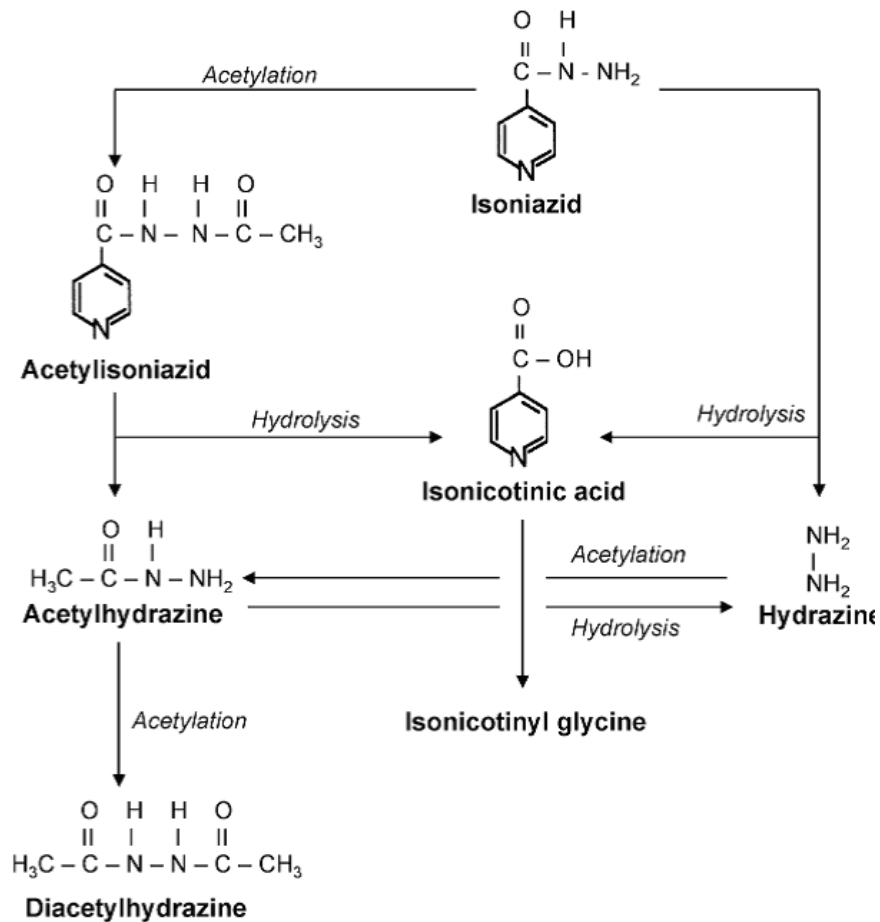


Figure8 : Les différentes voies de métabolisation de l'isoniazide chez l'Homme.

La capacité d'acétylation est variable selon les individus, et est sous contrôle génétique à transmission autosomique, permettant de différencier deux phénotypes : sujets acétyleurs rapides et sujets acétyleurs lents (tableau3).

Tableau 3: Sujets acétyleurs rapides et acétyleurs lents.

| | Acétyleurs rapides | Acétyleurs lents |
|------------------|--------------------|------------------|
| Race caucasienne | 40% | 60 % |
| Race noire | 60 % | 40 % |
| Race jaune | 90 % | 10 % |

Les conséquences de cette différence de vitesse d'acétylation sont difficiles à déterminer : il ne semble pas y avoir de différences d'efficacité, mais les effets secondaires neurologiques seraient plus importants chez les acétyleurs lents et les effets hépatotoxiques seraient plus importants chez les acétyleurs rapides.

La détermination de ces phénotypes permet d'adapter les posologies à chaque individu [17,18].

D).Elimination :

L'élimination étant urinaire (3/4 de la dose en 24 heures), la posologie doit être diminuée en cas d'insuffisance rénale.

La demi-vie d'élimination dépend du phénotype d'acétylation et peut varier de 1 à 6 heures [17].

II.1.5.Indications :

La seule indication de l'isoniazide est le traitement de la tuberculose, il représente un élément de tous les schémas chimiothérapeutiques antituberculeux actuellement recommandés par l'OMS. Il est indiqué à des fins:

- curatives :
 - Traitement de la tuberculose-maladie (active) ;
 - Traitement de la primo-infection symptomatique.

- prophylactiques en monothérapie :
- Primo-infection tuberculeuse asymptomatique.
- Contage avec un sujet bacillifère.
- Personne à risque de réactivation d'une tuberculeuse [18].

II.1.6.Mécanisme d'action pharmacologique :

L'isoniazide est une substance bactériostatique à faible dose et bactéricide aux doses usuelles d'utilisation.

Cet antibiotique possède un spectre étroit puisque son action est restreinte au complexe tuberculosis.

Aux doses thérapeutiques habituelles, le taux plasmatique obtenu (après administration per os) est 40 à 60 fois supérieur à la concentration minimale inhibitrice (CMI) [17].

L'INH inhibe la synthèse de la paroi bactérienne selon deux mécanismes d'action:

- Le premier concerne l'action de l'INH sur l'enzyme catalase-peroxydase codée par le gène katG. L'oxydation de l'INH par cet enzyme aboutit à la formation d'un métabolite actif entraînant la mort cellulaire.
- Le deuxième mécanisme concerne l'inhibition de la synthèse de la protéine InhA codée par le gène InhA. Cette protéine joue un rôle important dans la synthèse des acides mycoliques, composants majeurs de la paroi des mycobactéries.

Le spectre antibactérien de l'isoniazide est limité aux espèces *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* (complexe tuberculosis).

M. tuberculosis (bacille de Koch ou BK) constitue le principal agent de la tuberculose humaine en France. La localisation de *M.tuberculosis* peut être multiple :

- le caséum et l'empyème qui constituent des milieux anaérobies à pH acide contenant des bacilles à métabolisme lent.
- les cavités pulmonaires qui constituent un environnement aérobie avec des bacilles à croissance rapide.
- les macrophages qui contiennent des bacilles intracellulaires qui sont appelés des « bacilles dormants ».

L'isoniazide est bactéricide sur ces populations extra- et intra cellulaires de bacilles. Sa CMI sur le BK est de l'ordre de 0,05 mg/L.

Les résistances surviennent selon deux mécanismes : (d'après *M. tuberculosis* et mycobactéries atypiques).

- les mutations du gène katG empêchent la transformation de l'INH en produit actif. Cette mutation est observée chez 50 % des souches résistantes à l'INH et correspond à un haut niveau de résistance (CMI > 1 mg/L).
- les mutations du gène inhA surviennent chez 10 à 30 % des souches résistantes et correspond à un bas niveau de résistance (CMI < 1 mg/L).

Pour l'isoniazide, le taux de mutation par nombre de divisions du bacille est de 1×10^{-5} .

Le pourcentage de résistance primaire à l'INH est estimé à 4 % en France [18].

II.1.7. Interactions médicamenteuses :

Lors de l'administration concomitante de l'isoniazide avec d'autres médicaments, des interactions, peuvent être observée au niveau des différentes phases de la cinétique.

A). Interactions au niveau de l'absorption :

Les sels d'aluminium diminuent l'absorption digestive de l'INH.

B). Interactions au niveau du métabolisme :

B.1). Interactions isoniazide-médicaments :

L'isoniazide est un inhibiteur enzymatique et peut donc, lors d'association avec des antiépileptiques, augmenter leur concentration plasmatique, avec risque de surdosage par blocage de leur catabolisme hépatique [17].

B.2). Interactions médicaments-isoniazide :

- L'administration concomitante avec : les glucocorticoïdes et les inducteurs enzymatiques induit une augmentation du métabolisme hépatique de l'INH.
Une augmentation des effets hépatotoxiques peut se produire lorsque l'INH est associé au pyrazinamide, à la rifampicine et aux anesthésiques généraux halogénés qui sont des inducteurs enzymatiques.

Les inhibiteurs enzymatiques tels : kétoconazole, phénytoïne, carbamazépine provoquent une diminution du métabolisme de l'INH [18].

II.2.Mécanisme de l'induction de l'hépatotoxicité :

Ils sont généralement imprévisibles, de nature cytolytique avec augmentation des transaminases sériques. On note une fréquente élévation des transaminases lors des premiers mois de traitement [20].

Elle s'observe chez 10 à 20 % des malades sous INH seul mais dans un pourcentage plus élevé en cas d'association avec la rifampicine [21].

Une hépatite clinique survient chez 0,5 à 2 % des malades sous INH et chez 2,5 à 6 % en cas d'association à la rifampicine [22].

En effet, le risque d'hépatite aiguë, rare, augmente lors d'association avec des inducteurs enzymatiques : rifampicine, pyrazinamide, barbituriques, anesthésiques généraux, alcool, probablement par production de métabolites réactifs toxiques, tel l'acide isonicotinique et l'hydrazine dont l'implication est suspectée [17].

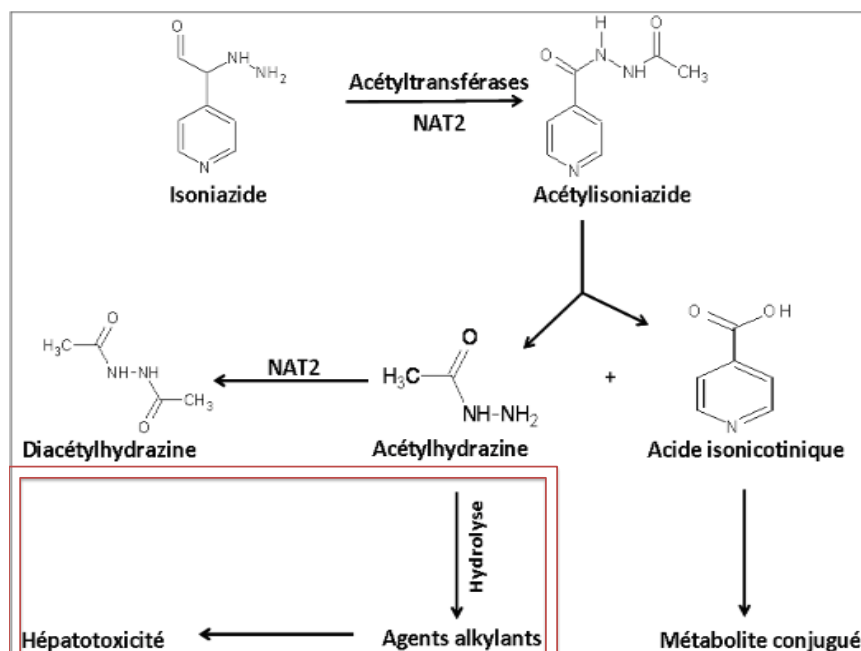


Figure9 : Formation de métabolites hépatotoxiques.

Ces métabolites toxiques peuvent se lier de façon covalente sur certains constituants des hépatocytes et entraîner la mort cellulaire, ou en déclenchant des réactions immunologiques [23].

Une hépatite mixte est rare; elle se manifeste dès le premier trimestre et régresse à l'arrêt du traitement ; elle est exceptionnellement mortelle.

Les facteurs favorisant l'apparition d'une hépatite toxique sont le déficit de prise en charge et de surveillance, le mésusage d'alcool, l'association de médicaments hépatotoxiques, l'âge avancé, une vulnérabilité hépatique [21,24, 25, 26,27,28, 29].

Les opinions divergent quant à la relation entre hépatite et phénotype d'acétylation [17].

Néanmoins, on associe le phénotype acétyleur rapide à un sur-risque de toxicité hépatique induit par la prise d'INH. Le dosage pré thérapeutique de l'isoniazidémie permet la meilleure adaptation posologique ; en revanche, ce dosage n'est pas indispensable hormis une vulnérabilité particulière et chez les sujets asiatiques avec un phénotype d'acétylation très rapide nécessitant des posologies plus fortes d'INH [20].

Cette hépatite se manifeste cliniquement par un ictère précédé de prodromes faits d'asthénie, arthralgies, troubles digestifs, douleurs abdominales avec hépatomégalie et fièvre, alors que biologiquement on a une augmentation de la bilirubine conjuguée, des transaminases et des phosphatases alcalines [17].

II. 3. Suivi thérapeutique des patients traités par l'isoniazide :

- **Définition du suivi thérapeutique:**

Le suivi thérapeutique est défini comme étant la stratégie pour ajuster les doses à administrer d'un médicament en utilisant la mesure de la concentration plasmatique à fin de:

- Assurer l'efficacité maximale vis-à-vis de la pathologie à traiter ;
- Minimiser le risque de toxicité lié à l'usage du médicament.

Il s'agit non seulement de mesurer des concentrations de médicaments, mais aussi de les interpréter en vue d'individualiser la posologie.

L'isoniazide est caractérisé par un faible index thérapeutique ainsi qu'une forte variabilité inter-individuelle, une adaptation posologique individuelle de l'isoniazide pourrait être

systématiquement réalisée lors de la mise en place d'un traitement antituberculeux comprenant l'Isoniazide.

- Recommandation du suivi thérapeutique de l'isoniazide:
 - Résistance : recherche de mutants résistants en cas d'échec thérapeutique ;
 - Toxicité dose-dépendante ;
 - Interactions médicamenteuses et alimentaires.
 - Polymorphisme pour l'acétylation de l'INH.

- Délai d'équilibre : 1 à 2 semaines.
- Moment de prélèvement : 2h post dose.
- Intervalle thérapeutique : 4 – 8 mg/L.

L'isoniazide peut entraîner un certain degré de cytolysse. Une surveillance accrue des transaminases au cours de la première semaine de traitement est recommandée en présence d'autres facteurs de risque hépatique (surtout en association avec la rifampicine et le pyrazinamide). Une élévation des transaminases doit conduire à vérifier la posologie des médicaments. Une augmentation modérée (supérieur à 3 fois la normale) ne nécessite pas l'interruption du traitement. Si l'augmentation est plus importante (supérieur à 6 fois la normale), il est nécessaire d'arrêter immédiatement le traitement. L'isoniazide peut être repris à une posologie moindre, avec une surveillance hépatique rapprochée.[29]

PARTIE PRATIQUE



CHAPITRE I. ECHANTILLONNAGE

I-1. Modalités d'échantillonnage : Population étudiée :

Notre population d'étude a été recrutée parmi les patients du service de maladies infectieuses, du centre hospitalo-universitaire de Constantine (CHUC).

Quatre patients au total, deux patients du côté homme, et deux patientes du côté femme, étaient sous isoniazide.

I-1.1. Critères d'inclusion et critères de non inclusion :

Les sujets inclus dans notre étude :

- Sujets adultes, d'âge > 18ans de sexe féminin et de sexe masculin.
- Patients hospitalisés au niveau du service de maladies infectieuses (CTX).
- Patients tuberculeux traités depuis moins d'un mois (patients récents).

Les sujets non inclus dans l'étude :

- Les sujets d'âge < 18 ans.
 - Les patients hospitalisés dans les autres services que CTX.
- Patients tuberculeux traités depuis une période dépassant un mois.

I-1.2. Fiches de renseignement :

Chaque prélèvement est accompagné par une fiche de renseignement, comportant les informations personnelles, les données médicales du patient et les modalités de prélèvement.



FICHE DE RENSEIGNEMENTS

« DOSAGE DE L'ISONIAZIDE »

PRESCRIPTEUR

Service..... Nom du Médecin.....

PATIENT

Nom : Prénom : Age :

Motif du traitement :

PRELEVEMENT

Pathologie associée :

Date et heure de la dernière prise :/...../..... àH.....

Prélèvement effectué le :/...../..... àH.....

Heure du prélèvement :

PRESCRIPTION

Date du début du traitement et/ou d'une éventuelle modification de posologie :

Posologie :

Traitement associé :

INFORMATION(S) COMPLEMENTAIRE(S) ET CONTEXTE CLINIQUE

.....
.....
.....

Figure10 : Fiche de renseignement INH.

I-2. Modalités de prélèvement :

Un prélèvement sanguin, sur un tube hépariné, est effectué 2 heures après la prise médicamenteuse.

Les prélèvements effectués, ont été directement acheminés au laboratoire.

CHAPITRE II.
MATERIEL ET METHODE

CHAPITRE II : Matériel et méthode

II.1. Matériel :

A).Préparation des solutions :

- Préparation de la solution mère :

Nous avons préparé une solution d'isoniazide à 1000 µg/mL, en dissolvant un comprimé d'isoniazide à 50 mg dans une fiole de 50 mL.

- Préparation de la solution de NaCl :

Nous avons préparé une solution de NaCl à 200 g/L, en dissolvant 40 g de NaCl dans 200 mL d'eau distillée.

- Préparation du mélange d'extraction :

L'extraction est effectuée par un mélange de chloroforme et de butanol 70 :30.

- Préparation de la dilution d'acide phosphorique :

Une solution d'acide phosphorique à 30 µmol/L est préparée en par dilution de 1mL d'une solution de H₃PO₄ dans 499 mL d'eau distillée.

- Préparation de la phase mobile :

La phase mobile est un mélange de méthanol et d'un tampon acétate (pH=5) 20 :80.

Le tampon acétate est préparé par dilution de 1,5 mL d'acide acétique avec de l'eau distillée, pour une quantité suffisante pour 500 mL. Le pH est ajusté à 5 par l'ammoniaque.

II.1.1. Appareillage :

Le dosage de l'isoniazide a été effectué par un appareil de chromatographie liquide haute performance (HPLC), LC-10 AT VP SHIMADZU, couplée à un détecteur UV, SPD-M10A VP SHIMADZU, dans le laboratoire de biochimie du CHUC.

A).Description de HPLC :La chromatographie permet la séparation ou la purification d'un ou de plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et de leur quantification. La chromatographie en phase liquide a permis de réaliser des analyses qui n'étaient auparavant pas possible avec les techniques sur couche mince ou en phase gazeuse.

A l'origine la chromatographie en phase liquide se faisait sur des colonnes en verre. Le liquide traversait la phase stationnaire par gravité ou sous faible pression. Puis pour augmenter le débit, des manipulations ont été réalisées sous pression plus forte. C'est ce que l'on a appelé la chromatographie liquide sous haute pression (HPLC) [30].



Figure11 : Appareillage d’HPLC du laboratoire de biochimie- CHU Constantine.

B).Principe :

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.

La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique.

Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire.

En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme [30].

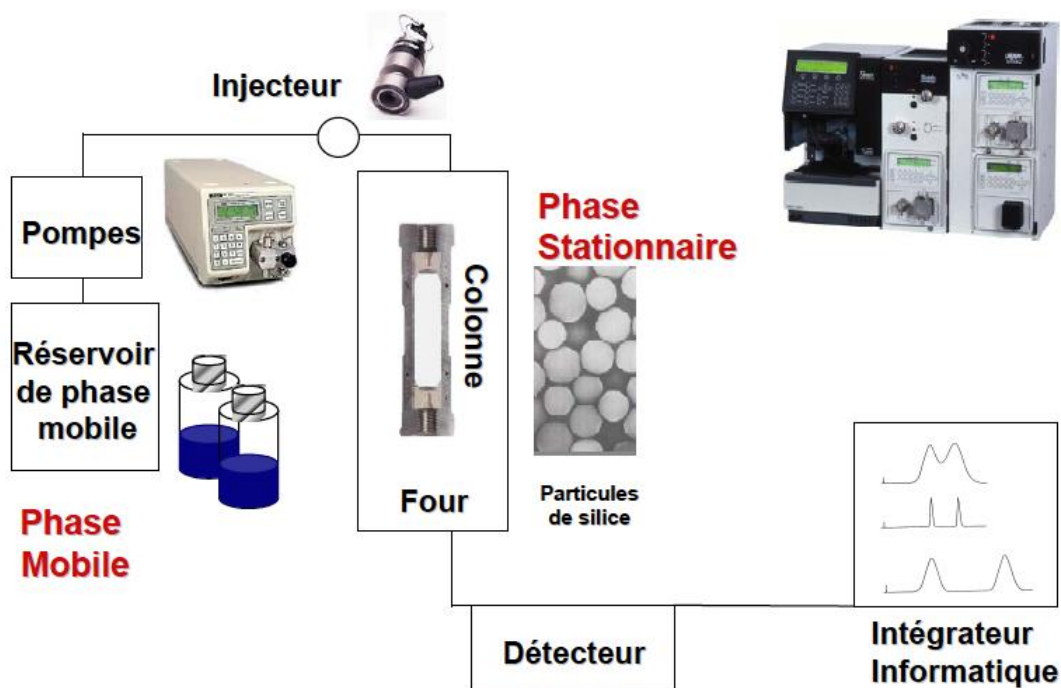


Figure12 : Appareil d’HPLC.

C). Description de colonne :

En mode analytique, les colonnes en inox ont généralement un diamètre interne de 4,6mm. La longueur est de 5, 10, 15, ou 25cm. Le remplissage (en silice, silice greffée ou particules polymériques) a une granulométrie de 3, 5, ou 10 μ m.

Le diamètre interne d'une colonne est usuellement de 4 ou 4,6 mm. Si des substances pures doivent être collectées en fin de chromatogramme des colonnes de gros diamètre seront nécessaires[30].

Nous avons travaillé avec une colonne C18, ref : 50 03 27.

II.2.Méthodologie analytique du dosage de l’isoniazide:

Les conditions opératoires, du traitement d’échantillon au déroulement chromatographique, ont été optimisées, afin d’obtenir une méthode, la plus spécifique et la plus rapide possible.

II.2.1. Optimisation des conditions chromatographiques :

Il s'agit de déterminer les conditions opératoires permettant d'obtenir un temps de rétention minimale pour l'isoniazide.

Pour déterminer les conditions chromatographiques, nous avons travaillé avec une solution fille d'isoniazide à 10 µg/mL. Nous avons fixé les conditions opératoires suivantes:

Longueur d'onde 270 nm.

Débit de la phase mobile : 1 mL/min.

Température de la colonne : 25 °C.

Température de l'injecteur : 4 °C.

Volume d'injection : 20 µL.

Nous avons obtenu un temps de rétention de 4,3 min pour l'isoniazide.

Nous avons fixé le temps de l'analyse à 5 min.

II.2.2. Optimisation des traitements des échantillons :

A).Etapes de l'extraction :

Nous avons travaillé dans les conditions suivantes :

- 500 µL de plasma (blanc) + 200 µL de NaCl + 5 mL (Cloroforme/butanol) → Vortex 5 min, centrifuger 10 min.
- Eliminer la phase aqueuse supérieure.
- Récupérer 4 mL de la phase organique + 500 µL H₃PO₄ → vortex 5 min, centrifuger 10 min.
- Récupérer 200 µL de la phase aqueuse.

Notez bien : Pour les échantillons des patients, nous avons centrifugé les tubes à 4000 t/min pendant 10 min, puis nous avons prélevé 400 µL. Nous avons complété à 500 µL par une solution fille d'isoniazide à 100 µg/mL.

B).Rendement d'extraction :

Le rendement d'extraction relatif est obtenu en calculant le rapport des signaux mesurés, d'une part, d'un échantillon chargé avec une quantité connue puis extrait (Aire avantextraction) et d'autre part, d'un échantillon extrait puis chargé (Aire après extraction)

de la même quantité de la cotinine.

$$R(\%) = (\text{Aire avant extraction}) / (\text{Aire après extraction}) \times 100$$

Nous avons calculé ce rapport pour 3 niveaux de concentrations, les résultats sont rapportés dans le tableau4:

Tableau4 : Calcul du rendement d'extraction.

| Concentration | Avant extraction | Après extraction | R% |
|---------------|------------------|------------------|-------|
| 5 µg/mL | 8805 | 9894 | 88,99 |
| 10 µg/mL | 18123 | 19573 | 92,59 |
| 100 µg/mL | 193091 | 218233 | 88,48 |
| | | Moyenne | 90,02 |

Le rendement moyen de l'extraction liquide-liquide par le chloroforme est de 90%.

Ce rendement est jugé satisfaisant.

II.2.3. Validation analytique:

A).Détermination de la spécificité :

Comme nous travaillons avec un prélèvement biologique, il faut donc vérifier l'absence de pics parasites au temps de rétention de l'isoniazide. Pour ce faire, nous avons utilisé un plasma blanc, ne contenant pas d'isoniazide, et il n'y avait pas de pic à 4,3 min.

La méthode est donc spécifique.

B).Linéarité:

Pour établir la courbe d'étalonnage, nous avons préparé des solutions dans le plasma, à des concentrations : 5, 10, 15, 20, et 25 µg/mL. Les volumes utilisés pour la préparation des dilutions sont résumés dans le tableau5:

de la même quantité de la cotinine.

$$R(\%) = (\text{Aire avant extraction}) / (\text{Aire après extraction}) \times 100$$

Nous avons calculé ce rapport pour 3 niveaux de concentrations, les résultats sont rapportés dans le tableau4:

Tableau4 : Calcul du rendement d'extraction.

| Concentration | Avant extraction | Après extraction | R% |
|---------------|------------------|------------------|-------|
| 5 µg/mL | 8805 | 9894 | 88,99 |
| 10 µg/mL | 18123 | 19573 | 92,59 |
| 100 µg/mL | 193091 | 218233 | 88,48 |
| | | Moyenne | 90,02 |

Le rendement moyen de l'extraction liquide-liquide par le chloroforme est de 90%.

Ce rendement est jugé satisfaisant.

II.2.3. Validation analytique:

A).Détermination de la spécificité :

Comme nous travaillons avec un prélèvement biologique, il faut donc vérifier l'absence de pics parasites au temps de rétention de l'isoniazide. Pour ce faire, nous avons utilisé un plasma blanc, ne contenant pas d'isoniazide, et il n'y avait pas de pic à 4,3 min.

La méthode est donc spécifique.

B).Linéarité:

Pour établir la courbe d'étalonnage, nous avons préparé des solutions dans le plasma, à des concentrations : 5, 10, 15, 20, et 25 µg/mL. Les volumes utilisés pour la préparation des dilutions sont résumés dans le tableau5:

Tableau5 : Préparation des dilutions pour la courbe d'étalonnage.

| | | | | | |
|--------------------------|-----|-----------------|-----|-----|-----|
| Conc sol file (µg/mL) | 5 | 10 ² | 15 | 20 | 25 |
| Volume sol file (µL) | 50 | 100 | 150 | 200 | 250 |
| Volume plasma (µL) | 950 | 900 | 850 | 800 | 750 |
| Volume total (mL) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

Après extraction, nous avons injecté 20 µL, et nous avons obtenu les surfaces, résumées ci-après (tableau6).

Tableau6 : surfaces de pics des points de la courbe d'étalonnage.

| | | | | | |
|-------------------|------|-------|-------|-------|-------|
| Conc (µg/mL) | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 |
| Surface du pic | 9813 | 19332 | 20926 | 44138 | 44830 |

En établissant la courbe des surfaces des pics en fonction des concentrations, nous avons obtenu une droite de formule $y = 1896,8x - 644,2$, avec $R^2 = 0,8999,6$ (figure13).

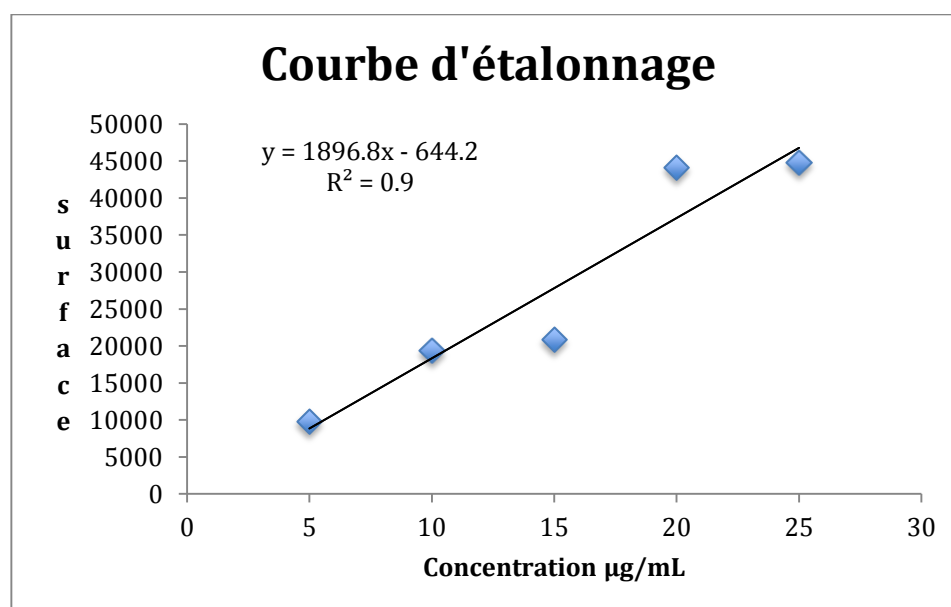


Figure13 : Courbe d'étalonnage.

La linéarité avec le coefficient de corrélation précédent n'est pas satisfaisante, on retire deux points de la courbe, à savoir les concentrations 15 et 20 µg/mL, pour améliorer la linéarité. Nous avons obtenu une droite de formule $y = 1739,1x + 1470,5$ avec un coefficient de corrélation $r = 0,9997$.

La linéarité est considérée comme satisfaisante.

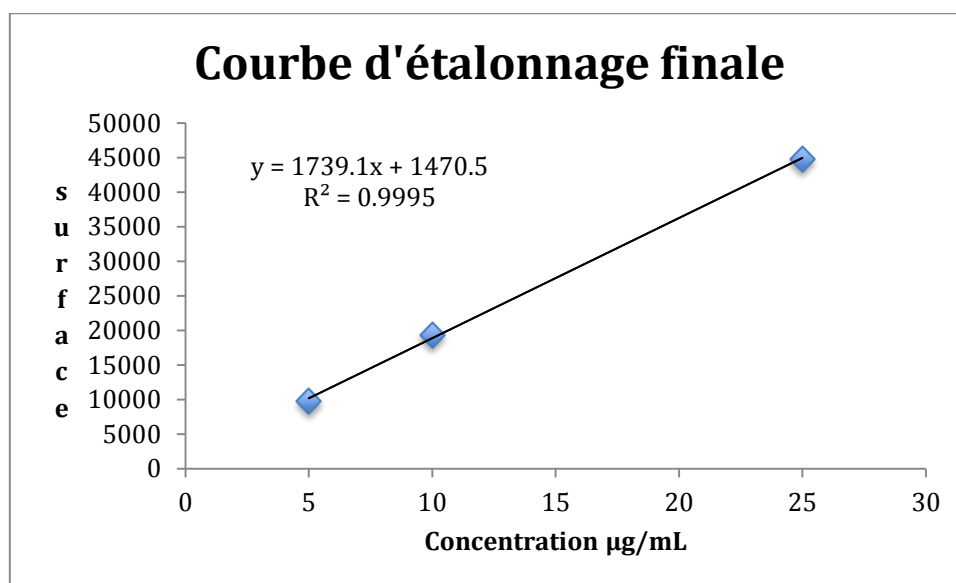


Figure 14: Courbe d'étalonnage finale.

C) .Limite de détection et de quantification :

Notre méthode d'analyse ne pouvait descendre en dessous de 5 µg/mL, ce qui ne convient pas du tout à notre suivi. En effet les taux sanguins après l'administration de la posologie préconisée, peuvent être inférieurs à cette limite.

Pour pallier à ce problème, nous avons ajouté une quantité connue d'isoniazide, pour élever le taux total (isoniazide présent dans le prélèvement + isoniazide ajouté) au seuil détectable par la méthode.

D).La justesse :

La justesse exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultat d'essais et la valeur qui est acceptée soit comme une valeur conventionnellement vraie, soit comme une valeur de référence acceptée.

Les paramètres qui peuvent utiliser pour évaluer la justesse sont :

- Le recouvrement moyen :

On établit la moyenne des concentrations calculées après notre analyse, par extrapolation sur la courbe, et on la compare à la concentration introduite. On calcule ensuite le pourcentage $CC*100/CI$. Le tableau7 résume les résultats obtenus :

Tableau7 : Recouvrement moyen :

| Concentrations µg/mL | Moyennes CC | R % | Limites d'acceptabilité |
|-------------------------|-------------|--------|-------------------------|
| 5 | 4,79 | 95,80 | 85-115% |
| 10 | 10,27 | 102,70 | |
| 25 | 24,93 | 99,73 | |
| Moyenne | | 99,41 | |

Avec un recouvrement de 99,41% la méthode est satisfaisante.

- Le biais relatif

On calcule la différence entre les concentrations calculées et introduites, son pourcentage doit être <15%

Sa valeur cible est de 0 (la concentration calculée est égale à la concentration introduite)

La limite d'acceptabilité : ± 15%.

Tableau8: Biais relatif.

| Concentrations µg/mL | Moyennes CC | | B % | Limites d'acceptabilité |
|-------------------------|-------------|-------|-------|----------------------------|
| 5 | 4,79 | -0,21 | -4,2 | ± 15% |
| 10 | 10,27 | 0,27 | 2,7 | |
| 25 | 24,93 | -0,07 | -0,28 | |
| Moyenne | | | -1,78 | |

Le biais relatif est les limites des ± 15%, largement acceptable

Après calcul du recouvrement et du biais, nous pouvons conclure que la technique est juste.

E).La fidélité :

Elle est exprimée en écart-type, et en coefficient de variation :

$$CV = \frac{\sigma}{\mu} \times 100$$

σ : écart-type

µi : Concentration calculée.

Les valeurs des coefficients de variation (CV) de la répétabilité et de la fidélité intermédiaire ne devraient pas excéder 15% pour les standards de validation.

Tableau9: Estimateurs (écarts types et CV) de la fidélité des trois courbes d'étalonnage.

| Concentrations µg/mL | Moyennes CC | Σ | CV % | Limites d'acceptabilité |
|-------------------------|-------------|---------|------|----------------------------|
| 5 | 4,79 | 0,37 | 7,72 | ± 15% |
| 10 | 10,27 | 0,44 | 4,28 | |
| 25 | 24,93 | 1,02 | 4,09 | |
| | | Moyenne | 5,36 | |

La méthode est considérée comme fidèle.

F).La sensibilité :

La sensibilité est la capacité d'une méthode à pouvoir faire la discrimination entre deux concentrations très voisines.

Comme il s'agit d'une droite d'étalonnage, la sensibilité est donnée directement par la pente de la droite. On parle de la sensibilité de la calibration.

Tableau10 : Valeurs des pentes pour les 3 jours de validation.

| Jour | Pente |
|----------------|--------|
| J1 | 1758,8 |
| J2 | 1690,3 |
| J3 | 1768,2 |
| Courbe moyenne | 1739,1 |

Nous remarquons que la sensibilité est relativement constante d'un jour à l'autre.

II.3. Analyse des paramètres biochimiques :

Un bilan biochimique hépatique, avec dosage des transaminases (ASAT, ALAT) et des phosphatases alcalines, a été effectué pour chaque patient, en parallèle avec le dosage de l'isoniazide.

Les paramètres biochimiques ont été dosés sur automate siemens ADVIA 1800 au niveau du laboratoire de biochimie.

CHAPITRE III.
RESULTATS

CHAPITRE III : Résultats

III-1-1. Principales données des patients :

Les principales informations concernant les patients, sont rapportées dans le tableau 11 :

Tableau11: Principales informations des patients.

| Patients | Age | Sexe | Indication | Début du trt | Posologie | Trt associé |
|-----------------|------------|-------------|-------------------|---------------------|------------------|--------------------|
| I1 | 56 | F | Tuberculose | 12/04/2016 | 5mg/Kg/J | + |
| I2 | 49 | H | Tuberculose | 23/03/2016 | 5mg/Kg/J | + |
| I3 | 50 | H | Tuberculose | 14/04/2016 | 5mg/Kg/J | + |
| I4 | 31 | F | Tuberculose | 06/04/2016 | 5mg/Kg/J | + |

III-1-2. Caractéristiques sociodémographiques de la population :

A). Répartition des patients en fonction de l'âge :

Les patients recrutés pour notre étude, sont des adultes dont l'âge est rapporté ci-après (figure15):

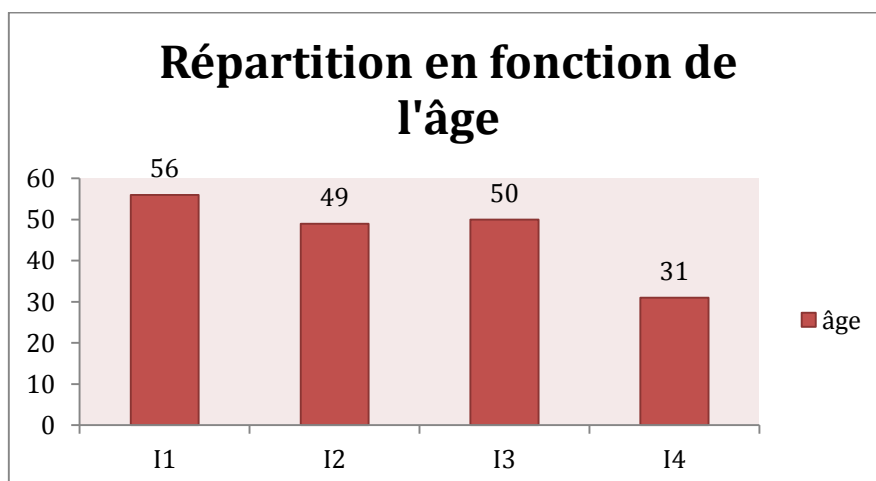


Figure15 : Répartition des patients en fonction de l'âge.

B).Répartition selon le sexe :

Les patients sont également répartis entre les deux sexes (figure16).

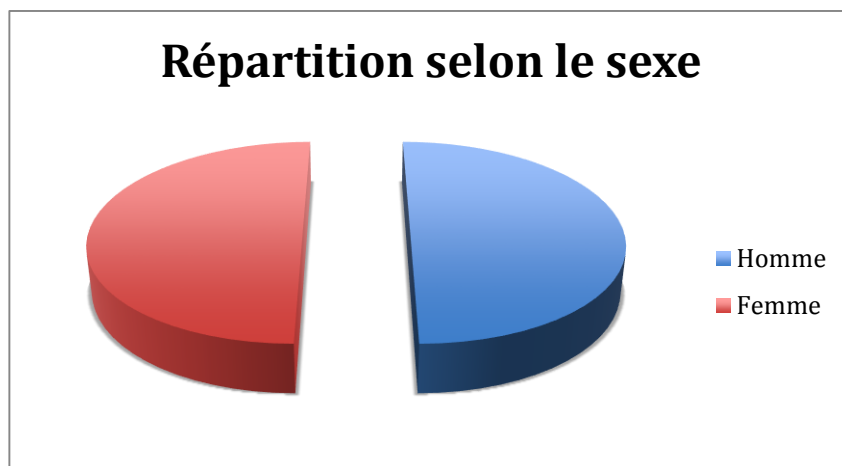


Figure16 : Répartition des patients selon le sexe.

C).Indication et posologie :

Tous les patients sont traités par l'isoniazide pour la tuberculose.

III-1-3. Résultats du dosage de l'isoniazide :

Le tableau12, comporte les surfaces des pics chromatographiques, et les concentrations d'isoniazide chez les patients de notre étude.

Tableau12 : Concentrations plasmatiques de l'isoniazide chez les patients.

| patient | Surface du pic | Concentration calculée (µg/mL) | Quantité (mg) | Concentration (INH) de patient (µg/mL) |
|----------------|-----------------------|---------------------------------------|----------------------|---|
| I1 | 24008 | 12,96 | 6,48 | – |
| I2 | 37821 | 20.9 | 10,45 | 1,125 |
| I3 | 23724 | 12.79 | 6,395 | – |
| I4 | 43231 | 24,01 | 12,005 | 5,01 |

Nous avons obtenu des concentrations de 1,12 et 5,01 µg/mL, chez les patients I2 et I4, respectivement.

Les patients I1 et I3, avaient des concentrations plasmatiques d'isoniazide, indétectables.

III-1-4. Résultats du bilan biochimique :

Un bilan hépatique a accompagné le dosage de l'isoniazide chez tous les patients de notre étude. Les résultats sont rapportés dans le tableau 13:

Tableau13: Résultats du bilan biochimique.

| patient | AST (U/L) | ALT (U/L) | PALamp (U/L) |
|-----------|-----------|------------|--------------|
| | 10-45 | 10-45 | 45-129 |
| I1 | 26 | 21 | 173 |
| I2 | 32 | 57 | 71 |
| I3 | 34 | 132 | 94 |
| I4 | 23 | 38 | 58 |

Deux patients, I2 et I3, ont présenté des taux d'ALAT supérieurs aux normes. Le patient I1 avait un taux de PAL supérieur aux normes.

CHAPITRE IV.
DISCUSSION

CHAPITRE IV : interprétations

IV-1. Interprétation du taux d'isoniazide par rapport à la CMI :

Comme cité dans le chapitre précédent, nous avons obtenu une concentration d'isoniazide détectable chez deux patients :

- Le patient I2 avait une concentration d'isoniazide de 1,125 µg/mL, valeur 22,5 fois la CMI.
- Le patient 14 avait une concentration d'isoniazide de 5,01 µg/mL, valeur 100,2 fois la CMI.

Ces deux patients avaient des concentrations dépassant la CMI et donc efficace sur la bactérie du BK.

Les deux autres patients avaient des concentrations d'isoniazide indétectable par notre méthode. Les deux patients sont dosés, d'où l'intérêt des prélèvements de l'isoniazide sont dosé car le résultat orientera le clinicien vers une adaptation posologique.

IV-2. Interprétation du bilan biochimique par rapport aux concentrations de l'isoniazide :

Le patient I4 avait un bilan hépatique dans les normes, et il avait la concentration en isoniazide la plus élevée.

Nous avons obtenu deux transaminases au dessus de la normale. Pour le patient I3, la concentration de l'isoniazide était indétectable. Il pourrait être acétyleur rapide, l'isoniazide est alors rapidement transformé en son métabolite toxique, responsable de l'élévation des ALAT.

Le patient I2 avait un taux d'isoniazide de 1,12 µg/mL, mais son taux d'ALAT est légèrement supérieur à la norme. L'implication de l'isoniazide n'est pas évidente.

Le patient I1 avait un taux de PAL supérieur à la normale, mais sa concentration en isoniazide était indétectable. L'appartenance à la classe des acétyleurs rapides pourrait expliquer cette élévation.

Le polymorphisme génétique dans le métabolisme de l'isoniazide est à considérer, pour prévoir l'apparition des effets hépatotoxiques.

Pour les patients de notre étude, son implication dans les altérations du bilan hépatique ne peut être confirmée. Néanmoins, le dosage de l'isoniazide orienterait les médecins vers une adaptation posologique pour éviter tout échec thérapeutique.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

L'isoniazide, hydrazide de l'acide isonicotinique, est un médicament antituberculeux majeur bactéricide, actif sur le complexe tuberculosis (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*) et indiqué dans la tuberculose en association avec les autres antituberculeux.

Les effets secondaires principaux de l'isoniazide sont de deux types : hépatotoxicité (due à l'hydrazine) et neurotoxicité.

Dans notre travail nous avons étudié la relation entre l'isoniazide et l'hépatotoxicité chez des patients traités au niveau du service de maladies infectieuses, du centre hospitalo-universitaire de Constantine (CHUC).

Le dosage de l'isoniazide par HPLC-UV a révélé pour deux patients des concentrations dépassant la CMI et donc efficace sur la bactérie du BK.

Les deux autres patients avaient des concentrations d'isoniazide indétectable par notre méthode.

Pour ces patients nous avons réalisé un bilan biochimique et nous avons étudié la relation entre les concentrations de l'isoniazide et l'élévation des transaminases (AST, ALT).

Le dosage de l'isoniazide s'avère indispensable dans le cadre du suivi thérapeutique pour une meilleure adaptation de la posologie et pour éviter la survenue d'une éventuelle hépatotoxicité.

BIBLIOGRAPHIE

[2] AMACHER DE MARTIN B-A. (1997). Tetracycline-Induced steatosis in primary canine hepatocyte cultures. *Fundamental and Applied Toxicology* 40 : 256-263.

[14] Alain Berson, Inserm U 481, Hépatotoxicité médicamenteuse, lésion du foie, Faculté Bichat, 16 rue Henri Huchard, 7 5018 Paris.

[21] Aouam K., Chaabane A., Loussaief C., et al. Les effets indésirables des antituberculeux : épidémiologie, mécanismes et conduite à tenir *Med Mal Inf* 2007 ; 37 : 253-261 [inter-ref] Dispensaire Émile-Roux, centre de lutte antituberculeux du Puy-de-Dôme 63, 11, rue Vaucanson, 63100 Clermont-Ferrand, France

^b Service de pharmacologie, centre régional de pharmaco-vigilance et d'information sur les médicaments, CHU de Clermont-Ferrand, 63000 Clermont-Ferrand, France

[22] Blumberg H.M., Burman W.J., Chaisson R.E., et al. American Thoracic Society/Centers for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases Society of America treatment of tuberculosis *Am J Respir Crit Care Med* 2003 ; 167 : 603-662

Dispensaire Émile-Roux, centre de lutte antituberculeux du Puy-de-Dôme 63, 11, rue Vaucanson, 63100 Clermont-Ferrand, France

^b Service de pharmacologie, centre régional de pharmaco-vigilance et d'information sur les médicaments, CHU de Clermont-Ferrand, 63000 Clermont-Ferrand, France

[23] Bouchentouf. R, El jastimi. S, Benjelloun. A, Aitbenasser. M. A. Hépatotoxicité des antituberculeux : épidémiologie, mécanisme et conduite à tenir. *Journal Africain d'Hépatogastroentérologie*; September 2011, 5:168

[11] Bianchi, c, Bonardo, G, and Marazzi-Uberti, E. (1968) toxicology of α -methyl- α -(2-morpholinoethyl)-1-naphthyl-acetic acid hydrochloride. *Toxicol APPL. Pharmacol.*

[17] Compagnon P, Bouquet S, Houin G. Suivi thérapeutique de l'isoniazide.

In: Marquet P. Suivi thérapeutique pharmacologique pour l'adaptation de posologie des médicaments. Paris : Elsevier, 2004 ; pp. 97-104.

Miscoria G, Leneveu A, Walle C, Roux A. Application d'une méthode de dosage de l'isoniazide et de l'acétylisoniazide par chromatographie liquide haute performance à la détermination du phénotype d'acétylation. *Ann Biol Clin* 1988 ; 46 : 734-740.

[29] Duroux P. Surveillance et accidents de la chimiothérapie antituberculeuse *Rev Prat* 1979 ; 29 : 2681-2689

Dispensaire Émile-Roux, centre de lutte antituberculeux du Puy-de-Dôme 63, 11, rue Vaucanson, 63100 Clermont-Ferrand, France

^b Service de pharmacologie, centre régional de pharmaco-vigilance et d'information sur les médicaments, CHU de Clermont-Ferrand, 63000 Clermont-Ferrand, France

[15] Dominique Larrey, Biomarqueurs d'hépatotoxicité, Service d'Hépatogastroentérologie et Transplantation, Hôpital Saint-Eloi CHU Montpellier.

[30]Extrait du Biotechnologie & Biologie et Physiopathologie humaine - Académie de Rouen
<http://biotech.spip.ac-rouen.fr/spip.php?article9>.Date de mise en ligne : mercredi 20 janvier 2010 .Copyright © Biotechnologie & Biologie et Physiopathologie humaine - Académie de Rouen - Tous droits réservés

[5] Guyton A.C. The liver as an organ. Textbook of Medical Physiology 2nd Edition, 1995. p.835-840.
Koolman J, Röhm KH. Atlas de Poche de Biochimie. Paris: Médecine-Sciences Flammarion. 1994. 426 p.

[24] Gonzales J., Dautzenberg B. Incidents et accidents du traitement antituberculeux Rev Prat Med Gen 1996 ; 10 : 11-115

Dispensaire Émile-Roux, centre de lutte antituberculeux du Puy-de-Dôme 63, 11, rue Vaucanson, 63100 Clermont-Ferrand, France

^b Service de pharmacologie, centre régional de pharmaco-vigilance et d'information sur les médicaments, CHU de Clermont-Ferrand, 63000 Clermont-Ferrand, France

[6](Jones et Spring-Mills, 1984; Jacquemin, 1998), (Meeks et al, 1991; Jacquemin, 1998)Mémoire d' hépatotoxicité médicamenteuse : cause et conséquence.

[7] Jacqueson A, Piriou A. Toxicologie. Collection Le Moniteur Internat Mécanismes et manifestations de l'action toxique au niveau hépatique.

Alain viala, toxicologie, 2007 ;

Franc Lu, toxicologie générale, 1991.

[13] Jose v. Castell, Maria Jose Gómez-Lechón, In vitro Investigation of the Molecular Mechanisms of Hepatotoxicity, Hospital Universitario La Fe. Avda. Campanar 21. E-46009 Valencia (Spain).

[1] (Leeks et al, 1991; Thomson et Shaffer, 2005). Larrey, EMC. Hépatopathies toxiques médicamenteuses et non médicamenteuses : généralités, D. Mémoire étude de la Toxicité des Médicaments posicor et Mintezol en culture primaire d' Hepatocytes].

[3] Larrey, EMC. Hépatopathies toxiques médicamenteuses et non médicamenteuses : généralités, D.

In vitro Investigation of the

Molecular Mechanisms of Hepatotoxicity, Jose v. Castell, Maria Jose Gómez-Lechón, Hospital Universitario La Fe. Avda. Campanar 21. E-46009 Valencia (Spain).

Biomarqueurs d'hépatotoxicité, Dominique Larrey, Service d'Hépatogastroentérologie ET Transplantation, Hôpital Saint-Eloi CHU Montpellier.

Hépatotoxicité médicamenteuse par atteinte mitochondriale, Alain Berson, Inserm U 481, Faculté Bichat, 16 rue Henri Huchard, 7 5018 Paris.

Lavoisier, Alain Viala Alain, Botta toxicologie 2eme édition, 2007 ;

Franc Lu, toxicologie générale, 1991

Planchages 2011/2012/2013

histo187. Saxena R., Theise N.D., Crawford J.M. Microanatomy of the human liver - Exploring the hidden interfaces. Hepatology. 30:1339-1346, 1999.

[10]Lavoisier, chapitre : mécanismes et manifestations de l'action des toxiques au niveau hépatique, pages {167-171} Bridges, J. W Benford, J. and Hubbard S. A (1983 Mécanisme

of toxicinjury. Ann. NY Acad.) Sci. 407 : 42-63. Alain Viala Alain, Botta toxicologie 2eme édition.

[4] Malik R., Selden C, Hodgson H. The rôle of non-parenchymal cells in liver growth. Semin. Cell Develop Biol. 13:425-431, 2002.

[9] (Meeks et al., 1991 ; Thomson et Shaffer, 2000) Mémoire Etude De La Toxicité Des Médicaments Posicor Et Mintezol En Culture Primaire D' Hépatocytes.

[26] Mallat A. Hépatites médicamenteuses : diagnostic et prise en charge Gastroenterol Clin Biol 1999 ; 23 : 906 [inter-ref]

Dispensaire Émile-Roux, centre de lutte antituberculeux du Puy-de-Dôme 63, 11, rue Vaucanson, 63100 Clermont-Ferrand, France

^b Service de pharmacologie, centre régional de pharmaco-vigilance et d'information sur les médicaments, CHU de Clermont-Ferrand, 63000 Clermont-Ferrand, France

[27] Nolan C.M., Goldberg S.V., Buskin S.E.

Hepatotoxicity associated with isoniazid preventive therapy JAMA 1999 ; 281 : 1014-1018 [cross-ref]

Dispensaire Émile-Roux, centre de lutte antituberculeux du Puy-de-Dôme 63, 11, rue Vaucanson, 63100 Clermont-Ferrand, France

^b Service de pharmacologie, centre régional de pharmaco-vigilance et d'information sur les médicaments, CHU de Clermont-Ferrand, 63000 Clermont-Ferrand, France

[8] (Plaa et Hewitt, 1998, Meeks et al, 1991) Mémoire Etude De La Toxicité Des Médicaments Posicor Et Mintezol En Culture Primaire D' Hépatocytes.

[20] Perriot. J, Chambonnet. É, Eschalier. A. Les effets indésirables des antituberculeux ; prise en charge. Revue des maladies respiratoires; 2011, 10.1016/j.rmr.2010.10.034

[28] Pande J.N., Singh S.P., Khilnani G.C., et al. Risk factors for hepatotoxicity from antituberculosis drugs: a case-control study Thorax 1996 ; 51 : 132-136 [cross-ref]

Dispensaire Émile-Roux, centre de lutte antituberculeux du Puy-de-Dôme 63, 11, rue Vaucanson, 63100 Clermont-Ferrand, France

^b Service de pharmacologie, centre régional de pharmaco-vigilance et d'information sur les médicaments, CHU de Clermont-Ferrand, 63000 Clermont-Ferrand, France

[12] (Richard, Moreau, Maladie du foie INSERM 773, Paris, 2010.116-119) Mémoire d' hépatotoxicité médicamenteuse : cause et conséquence.

[25] Shakya R., Rao B.S., Shrestha B. Incidence of hepatotoxicity due to antitubercular medicines and assessment of risk factors Ann Pharmacother 2004 ; 38 : 1074-1079 [cross-ref]

Dispensaire Émile-Roux, centre de lutte antituberculeux du Puy-de-Dôme 63, 11, rue Vaucanson, 63100 Clermont-Ferrand, France

^b Service de pharmacologie, centre régional de pharmaco-vigilance et d'information sur les médicaments, CHU de Clermont-Ferrand, 63000 Clermont-Ferrand, France

[19] Thèse pour l'obtention du grade de DOCTEUR DES UNIVERSITÉS DE LILLE 2 et DE

DAKAR, soutenue le 10 Décembre 2012: Etude du polymorphisme génétique de la N-Acétyltransférase de type 2 (NAT2) dans la population sénégalaise : prévention de la toxicité et de l'échec thérapeutique de l'isoniazide dans la prise en charge de la tuberculose

[16] Validation du dosage de l'Isoniazide et du Pyrazinamide dans le plasma par chromatographie liquide à haute performance.
Memoire De Fin D'etudes Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques. (HPLC) pour le suivi thérapeutique pharmacologique BOURICHI Selma.

[18] <http://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/antituberculeux-isoniazide>

<http://www.em-consulte.com/rmr/article/288630>

<http://www.em-consulte.com/rmr/article/288630>

<http://www.em-consulte.com/rmr/article/288630>

<http://www.em-consulte.com/rmr/article/288630>

<http://www.em-consulte.com/rmr/article/288630>

<http://www.em-consulte.com/rmr/article/288630>

<http://www.em-consulte.com/rmr/article/288630>

<http://www.em-consulte.com/rmr/article/288630>

ANNEXES



Réactifs et solutions de travail:

Liste des réactifs :

- NaCl
- Chlorforme
- Butanol
- Acide phosphorique H_3PO_4
- Comprimés d'isoniazide dosés à 100 mg
- Eau distillée
- Méthanol
- Acide acétique
- Ammoniaque
- Matière biologique : Plasma récupéré au centre de transfusion sanguine

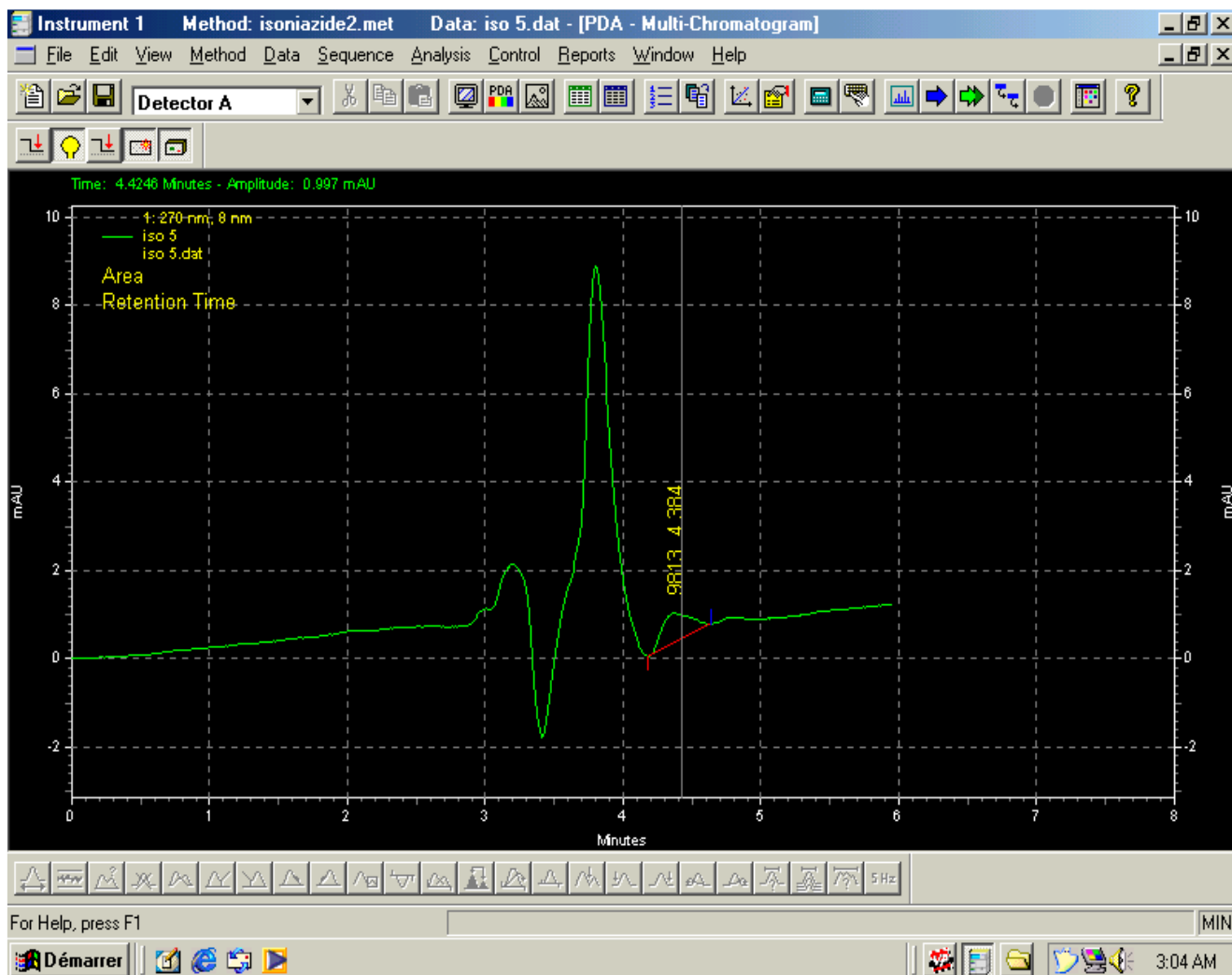


Figure17 : Concentration 5 µg/mLde l'isoniazide.

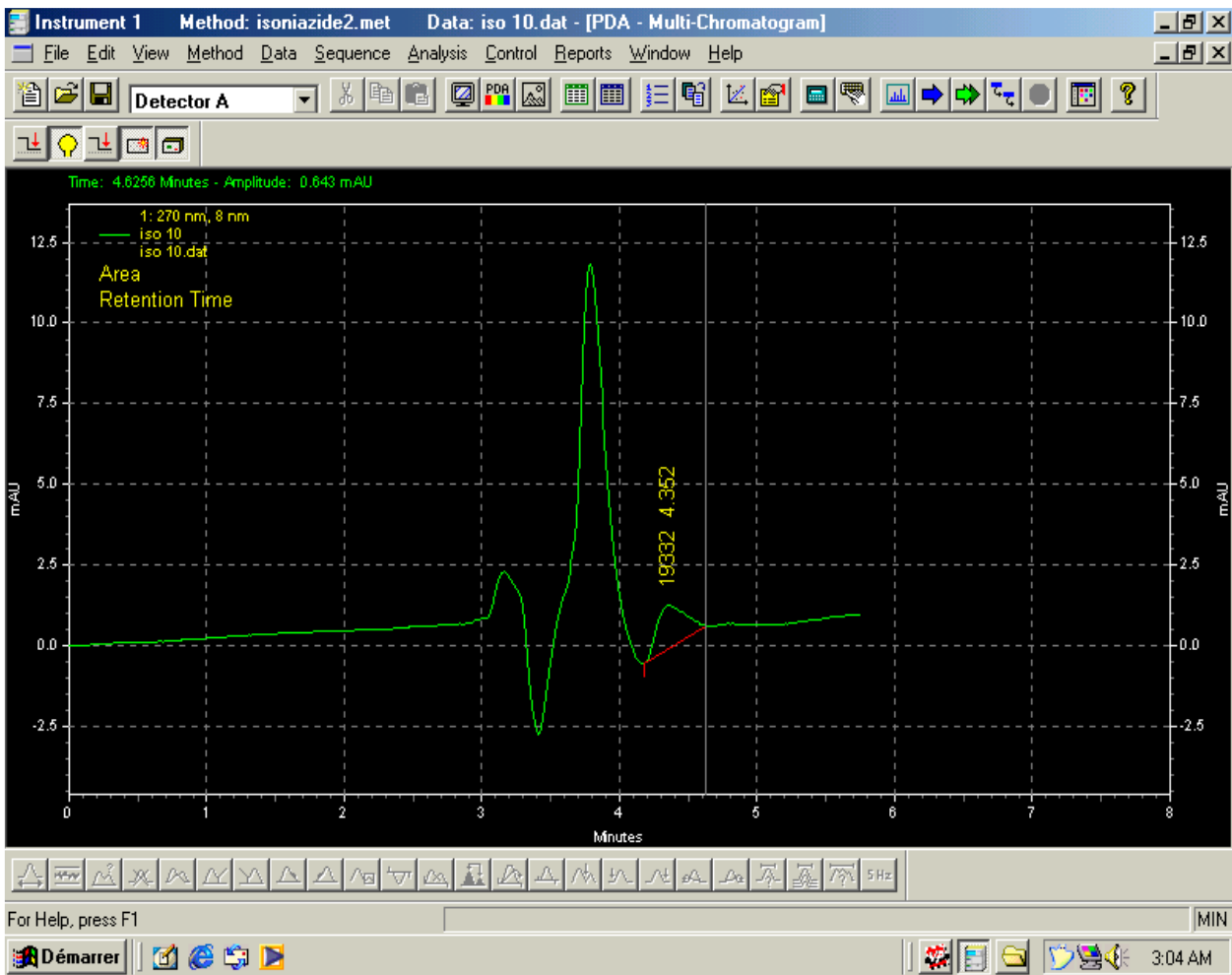


Figure18 : Concentration 10 µg/mL de l'isoniazide.

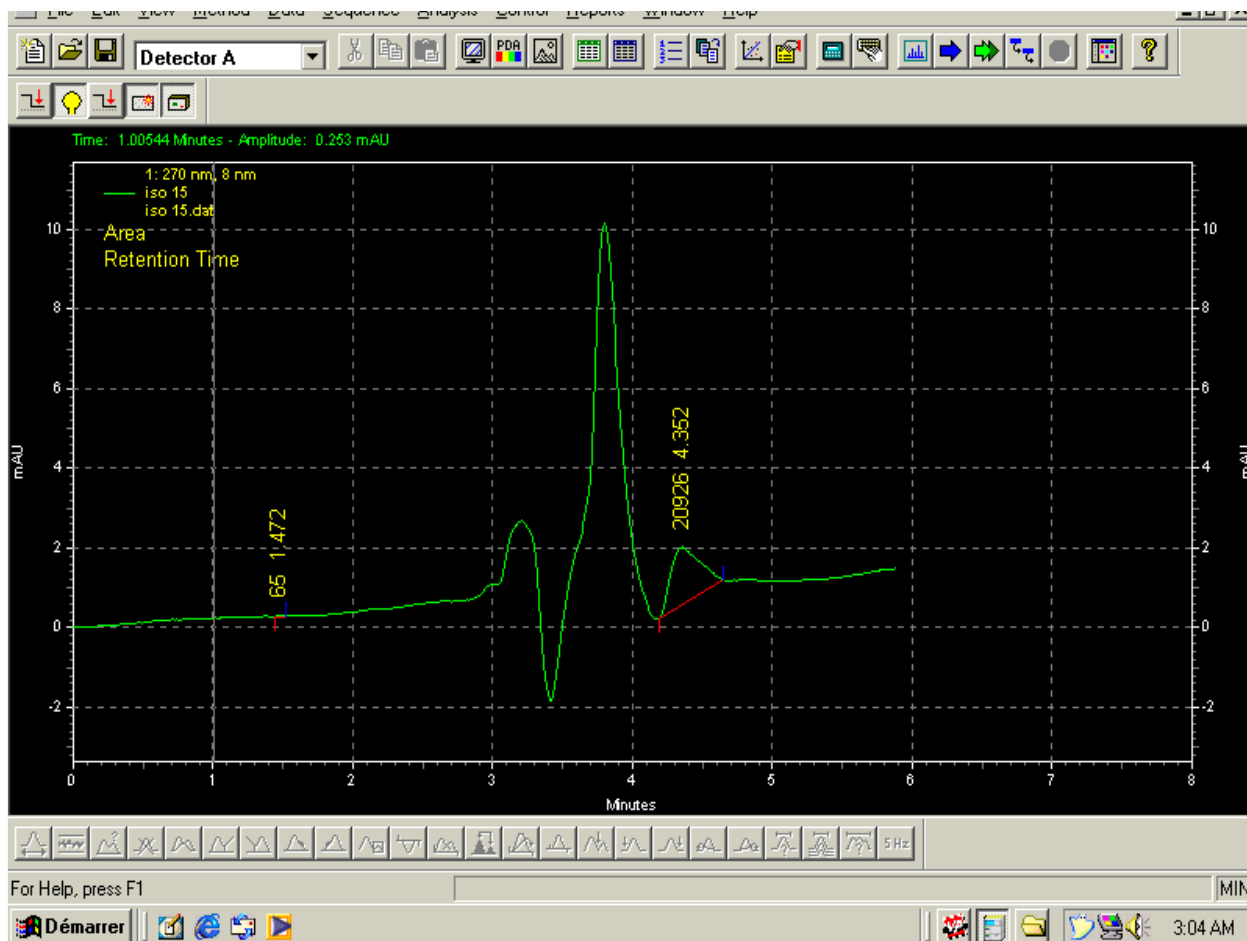


Figure19 : Concentration 15µg/mL de l'isoniazide.

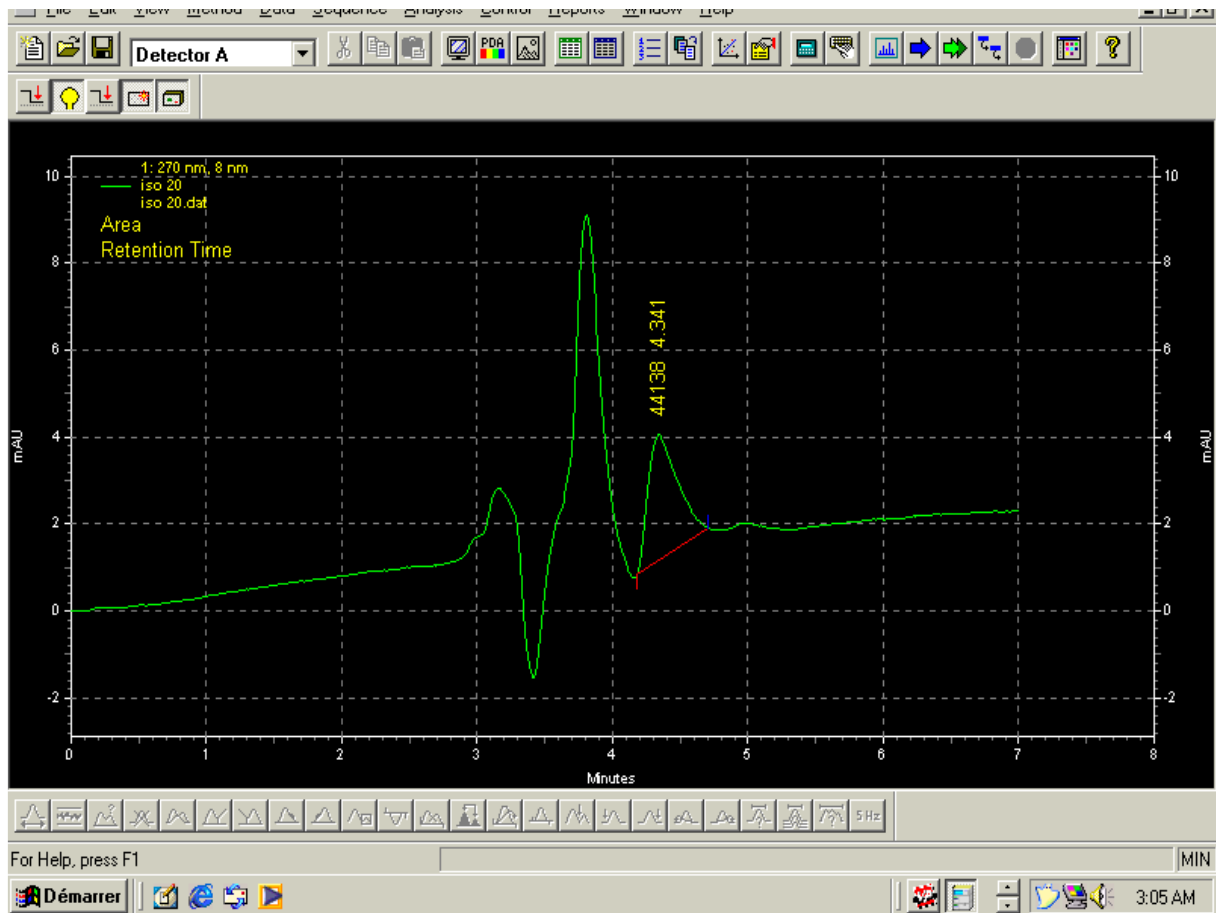


Figure20: Concentration 20µg/mL de l'isoniazide.

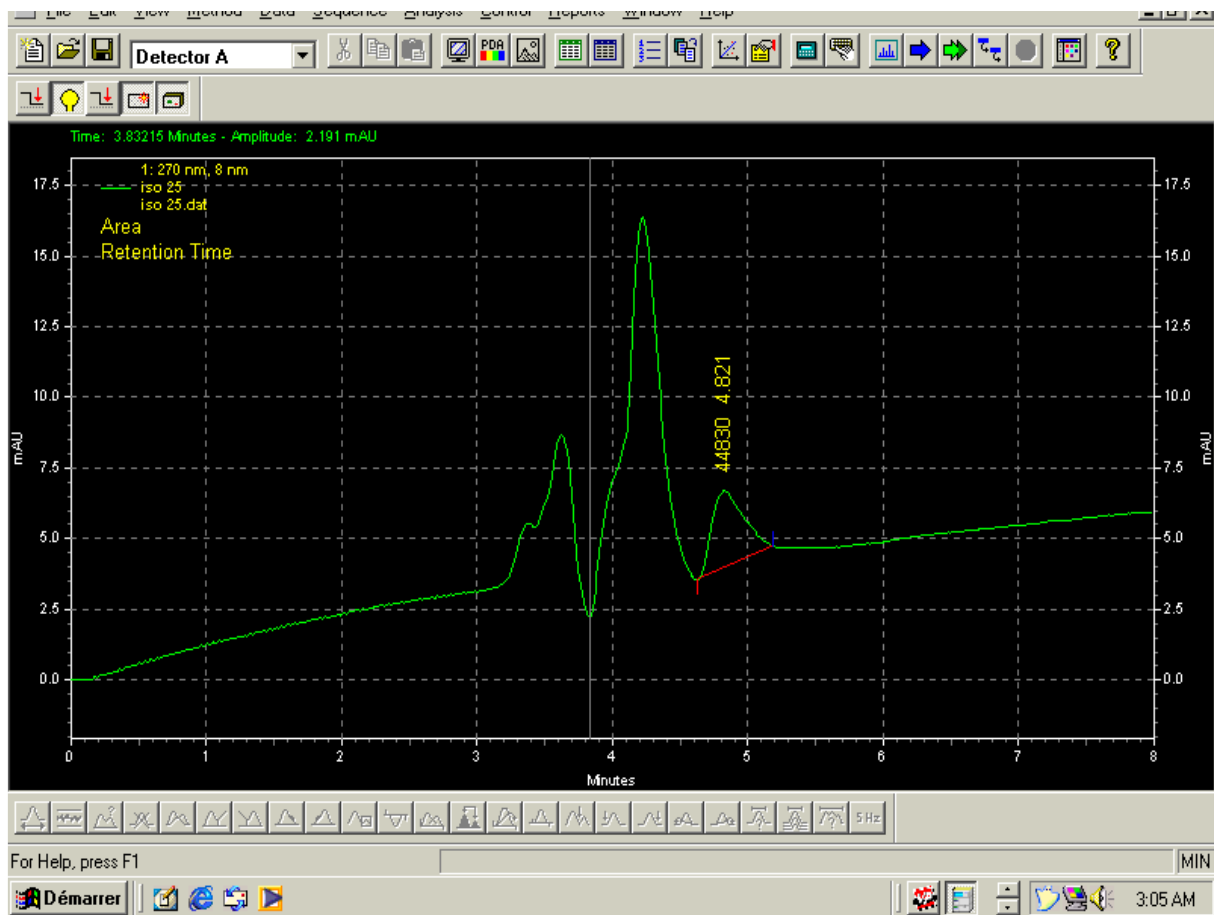


Figure21: Concentration 25µg/mL de l'isoniazide.

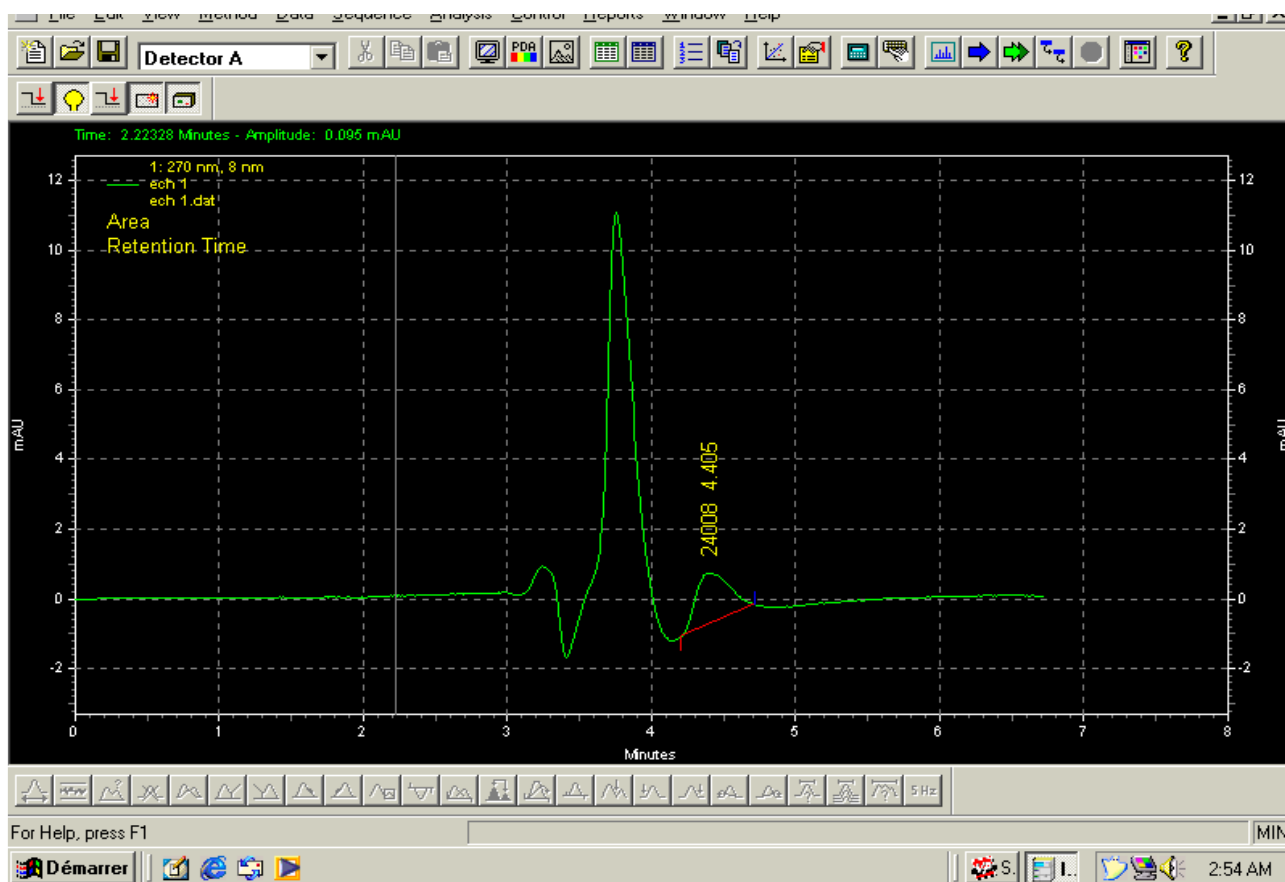


Figure22 :Concentrations de l'isoniazide chez les patient1.

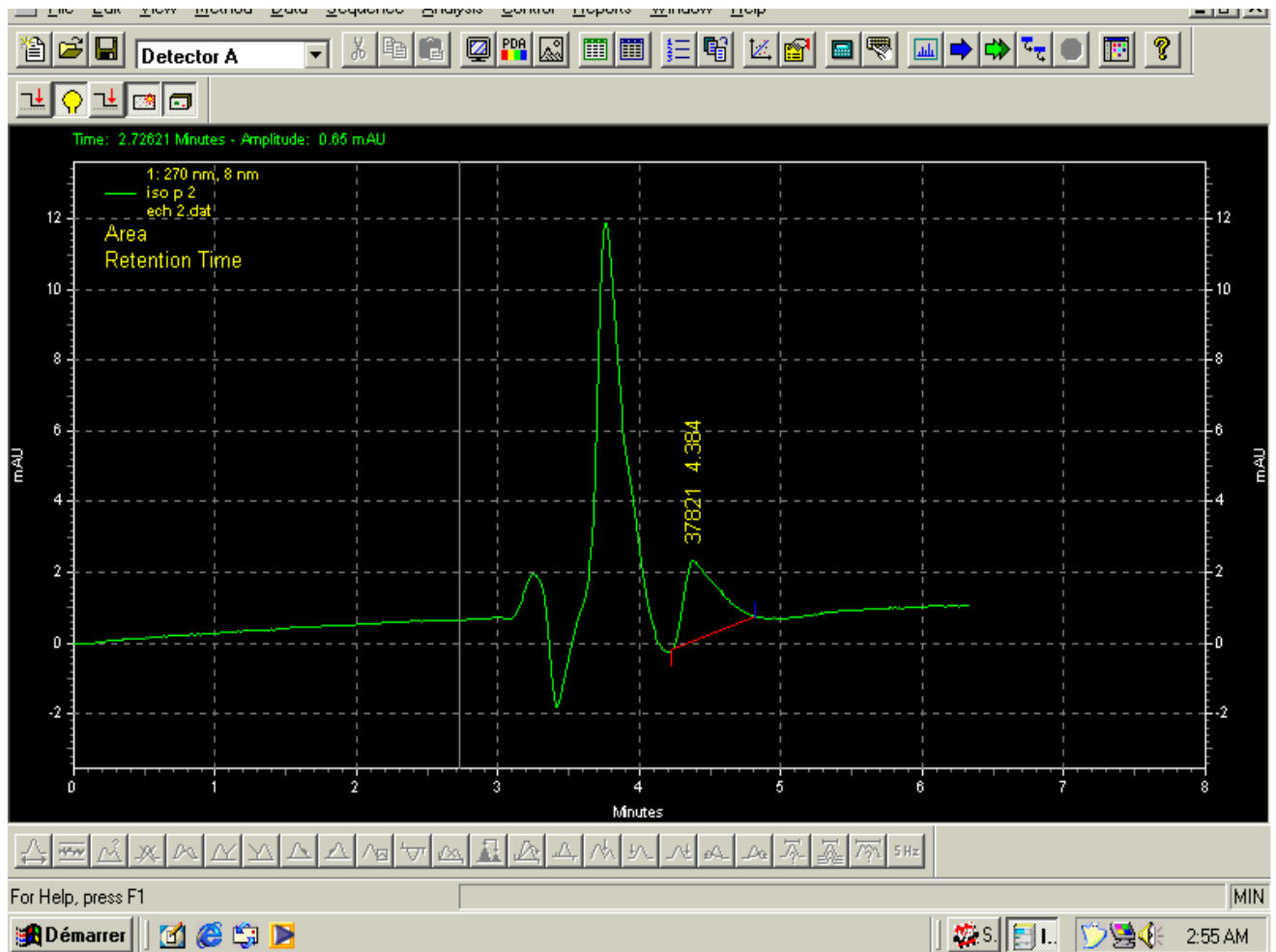


Figure23 : Concentrations de l'isoniazide chez les patient2.

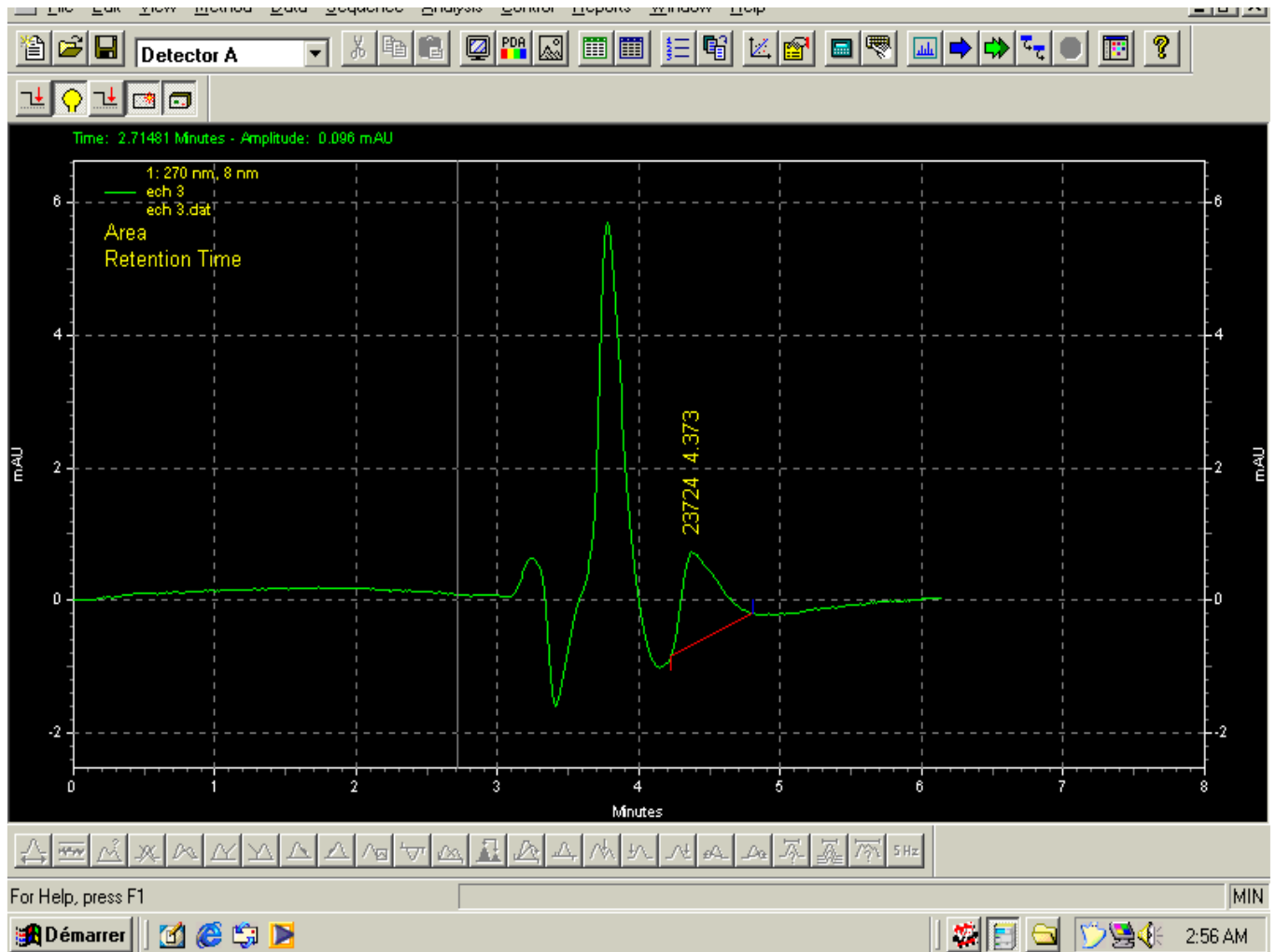


Figure24 : Concentrations de l'isoniazide chez les patient3.



Figure25 : Concentrations de l'isoniazide chez les patient4.

العلاجي ديزاينوزي مراقبة المخدرات ضروري بسبب وجود تعدد الأشكال الجيني للأستلة وللجمعية مع محرضات الأنزيم.

وكان الهدف من هذا العمل لتقييم مكان جرعة إيزونيازيد، علامة أستلة النمط الظاهري، لتجنب underdosing (عدم الكفاءة العلاجية) أو ظهور جرعة زائدة من علامات السمية.

تم تجنيده السكان دراستنا من المرضى في قسم الأمراض المعدية في مستشفى جامعة قسنطينة (تشوك). يتم أخذ عينة الدم بعد 2 ساعة من تناول الدواء. تم إجراء فحص بالأيزونيازيد بواسطة HPLC للأشعة فوق البنفسجية في تشوك الكيمياء الحيوية في المختبرات.

ظروف التشغيل، وتجهيز العينات إلى الكروماتوغرافي بطبيعة الحال، وقد الأمثل للحصول على الأسلوب، وأكثر تحديدا وسريعة قدر الإمكان.

تم إجراء الاختبارات البيوكيميائية الكبد، مع جرعة من الترانساميناسات (ALT، AST) والفوسفاتيز القلوية لكل مريض، بالتوازي مع تحديد ديزاينوزي.

حصلنا على تركيز بالأيزونيازيد اكتشفها في اثنين من المرضى، وكان اثنين من المرضى تركيزات تزيد على هيئة التصنيع العسكري، وبالتالي فعالة على البكتيريا BK.

وكان اثنين من المرضى الآخرين مستويات غير قابلة للكشف من قبل ديزاينوزي أسلوبنا. وكان أحد المرضى اختبارات وظائف الكبد في المعايير، وكان أعلى تركيز من ديزاينوزي. حصلنا على اثنين الترانساميناسات فوق المعدل الطبيعي. على حد سواء، وكان تركيز ديزاينوزي لا يمكن الكشف عنها، يمكن أن يكون مؤسئل بسرعة.

الجرعة إيزونيازيد ضرورية في رصد العلاجية لتحسين تعديل الجرعة، ومنع وقوع الممكن الكبدي.

كلمات البحث: مراقبة العلاجية ديزاينوزي الكبدي، HPLC للأشعة فوق البنفسجية، مؤسئل.

summary

Therapeutic drug monitoring isoniazid is necessary due to the existence of a genetic polymorphism of acetylation and of the association with enzyme inducers.

The objective of this work was to evaluate the place of isoniazid dosage, marker acetylation phenotype, to avoid underdosing (therapeutic inefficiency) or an overdose appearance of signs of toxicity.

Our study population was recruited from patients in the infectious diseases department of the university hospital of Constantine (CHUC).

A blood sample is taken 2 hours after drug intake. The isoniazid assay was performed by HPLC-UV in the laboratory biochemistry CHUC.

The operating conditions, sample processing to chromatographic course, have been optimized to obtain a method, the more specific and as rapid as possible.

Liver biochemical tests, with dosage of transaminases (AST, ALT) and alkaline phosphatase was performed for each patient, in parallel with the determination of isoniazid.

We got a detectable isoniazid concentration in two patients, two patients had concentrations exceeding the MIC and therefore effective on bacteria BK.

The other two patients had undetectable levels of isoniazid by our method. One patient had liver function tests in the standards, and had the highest concentration of isoniazid. We got two transaminases above normal. For both, the concentration of isoniazid was undetectable, it could be acetylator fast.

The isoniazid dosage is essential in the therapeutic monitoring for better dose adjustment and to prevent the occurrence of possible hepatotoxicity.

Keywords: therapeutic monitoring isoniazid hepatotoxicity, HPLC-UV, acetylator.

*Louange à **ALLAH**, Le Tout Puissant, qui nous a aidé à accomplir ce travail et à le mener à bon terme.*

Présenté par : khanfri soumia
Tehami manel

Année universitaire : 2015/2016

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en biochimie moléculaire et santé

Résumé

Le suivi thérapeutique pharmacologique de l'isoniazide est nécessaire en raison de l'existence d'un polymorphisme génétique de l'acétylation et de l'association aux inducteurs enzymatiques.

L'objectif de ce travail a été d'évaluer la place du dosage de l'isoniazide, marqueur du phénotype d'acétylation, afin d'éviter un sous-dosage (inefficacité thérapeutique) ou un surdosage avec apparition de signe de toxicité.

Notre population d'étude a été recrutée parmi les patients du service de maladies infectieuses, du centre hospitalo-universitaire de Constantine (CHUC).

Un prélèvement sanguin est effectué 2 heures après la prise médicamenteuse. Le dosage de l'isoniazide a été effectué par HPLC-UV dans le laboratoire de biochimie du CHUC.

Les conditions opératoires, du traitement d'échantillon au déroulement chromatographique, ont été optimisées, afin d'obtenir une méthode, la plus spécifique et la plus rapide possible.

Un bilan biochimique hépatique, avec dosage des transaminases (ASAT, ALAT) et des phosphatases alcalines, a été effectué pour chaque patient, en parallèle avec le dosage de l'isoniazide.

Nous avons obtenu une concentration d'isoniazide détectable chez deux patients, ces deux patients avaient des concentrations dépassant la CMI et donc efficace sur la bactérie du BK.

Les deux autres patients avaient des concentrations d'isoniazide indétectable par notre méthode. Un patient avait un bilan hépatique dans les normes, et il avait la concentration en isoniazide la plus élevée. Nous avons obtenu deux transaminases au dessus de la normale. Pour un des deux, la concentration de l'isoniazide était indétectable, il pourrait être acétyleur rapide.

Le dosage de l'isoniazide s'avère indispensable dans le cadre du suivi thérapeutique pour une meilleure adaptation de la posologie et pour éviter la survenue d'une éventuelle

hépatotoxicité.

Mots clés : **Mots clés** : suivi thérapeutique, isoniazide, hépatotoxicité, HPLC-UV, acétyleur.

Laboratoire de recherche : toxicologie

Jury d'évaluation :

Président du jury : NOIDRIAL TAHAR (Grade - UFM Constantine),

Rapporteur : BELMAHI (Grade - UFM Constantine),

Examineur : HABIBATNI (Grade - UFM Constantine).

Date de soutenance : 19/06/2016