



Année Universitaire : 2010-2011

Master Sciences et Techniques : CMBA
Chimie des Molécules Bio Actives



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

**Suivi Thérapeutique Pharmacologique
des antiépileptiques
« Cas d'acide valproïque »**

Présenté par:

SIHAM BELAOUNI

Encadré par:

- Pr. Youssef Khabbal (Pharmacologue CHU Fès /Professeur de l'enseignement supérieur à FMP)
- Pr. Said Chakroune (Professeur de l'enseignement supérieur à FST)

Soutenu Le 23 Juin 2011 devant le jury composé de:

- Pr. Said Chakroune
- Pr. Youssef Khabbal
- Pr. Adiba Kandri Rodi
- Pr. Khadija Moughamir

Stage effectué à : Unité de Pharmacologie au laboratoire central de CHU Fès



Dédicace

A mes très chers parents

A ceux que j'aime le plus au monde, A ceux qui m'ont tout donné sans compter. Vous avez été pour moi tout au long de mes études le plus grand symbole d'amour, de dévouement qui n'ont ni cessé ni diminué. En ce jour, j'espère réaliser l'un de vos rêves, et j'espère ne jamais vous décevoir ni trahir votre confiance. Que dieu vous garde et procure santé, bonheur, et longue vie pour que vous demeuriez le flambeau illuminant le chemin de vos enfants.

A mon très cher frère Mourad,

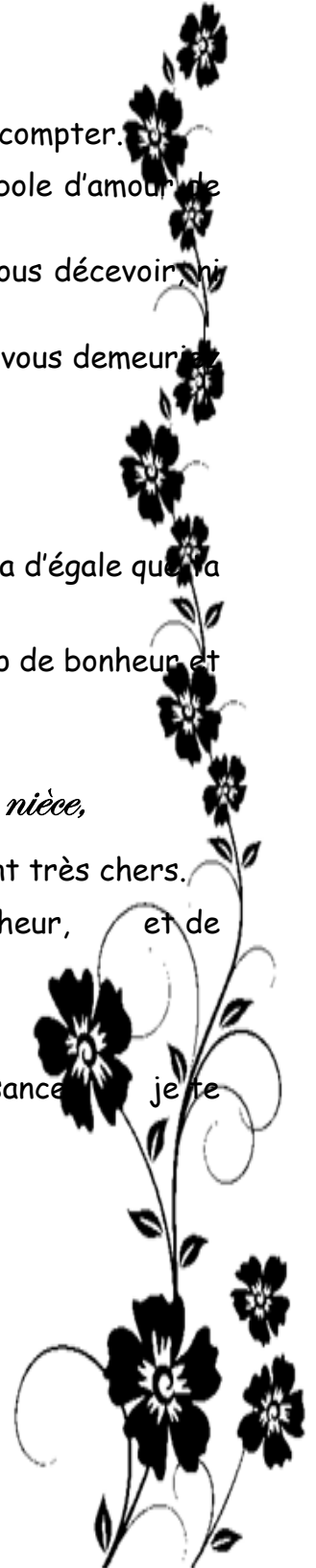
Tu m'as toujours soutenu dans les moments difficiles. Ton affection n'a d'égale que ta gentillesse. Avec mon grand amour, je te dédie ce travail en te souhaitant beaucoup de bonheur et un avenir plein de joie.

A ma très chère sœur Ghizlane, son mari Adam et ma nièce,

Votre encouragement, affection et votre spontanéité de cœur me sont très chers. Que dieu vous protège et vous offre un avenir plein de succès, de bonheur, et de santé.

A ma très chère sœur Nissar

En témoignage de ma sincère affection et de ma profonde reconnaissance je te dédie ce travail avec mes souhaits de bonheur et de réussite.





A toute ma famille,

Je vous dédie ce travail en vous souhaitant tout le bonheur du monde.

A ma très chère amie Ouafae,

Je n'ai jamais connu une fille de ta gentillesse et ton amabilité, jamais je n'oublierai tous les moments passés ensemble.

Que ce travail, si modeste qu'il soit témoignage de ma gratitude et ma profonde affection.

A mes amis (es) et ceux qui me sont chers,

Je vous dédie ce travail avec mes sentiments les plus sincères, en mémoire de tous les moments agréables vécus ensemble.

*A toute la promotion 2010/2011 de la faculté des sciences et techniques
option : Chimie des Molécules Bioactives.*





Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le directeur du centre hospitalier universitaire Hassan II de Fès. De m'avoir accueilli au sein de son établissement.

Je remercie particulièrement Pr. A. AMARTI, chef du laboratoire pour m'avoir autorisé d'effectuer mon stage de fin d'études.

Je remercie le Pr Y. KHABBAL, d'avoir accepté de m'encadrer au sein de laboratoire de biochimie (unité de pharmacologie). Votre gentillesse extrême, votre compétence pratique, vos qualités humaines et professionnelles ainsi que votre compréhension à l'égard des étudiants m'inspirent une grande admiration et un profond respect.

Je remercie le Pr S. CHAKROUNE, pour la gentillesse et la spontanéité avec lesquelles vous avez bien voulu diriger ce travail. J'ai eu le plus grand plaisir à travailler sous votre direction, j'ai trouvé auprès de vous le conseiller et le guide qui m'a reçu en toute circonstance avec sympathie, sourire et bienveillance.

Mesdames, Messieurs les jurys je suis très sensible à l'honneur que vous me faites en acceptant avec spontanéité de juger mon modeste travail.

Je remercie infiniment le Docteur A. ATTARI, j'ai trouvé auprès de vous le conseiller, le sourire et à la bienveillance.



Par ailleurs je profite de l'occasion pour présenter mes sincères remerciements à Mme K. AMZIANE, j'ai trouvé auprès de vous l'aide et le guide qui m'a reçu en toute circonstance avec sympathie, et sourire.

Je remercie les techniciens et les techniciennes de laboratoire au sein de CHU Fès, j'ai trouvé auprès d'eux le conseiller, et la bienveillance.

Je voudrais être digne de la confiance que vous m'avez accordée et chers professeurs, de trouver ici le témoignage de ma reconnaissance et profonde gratitude.



Liste des abréviations

- ∞ ACV : acide valproïque
- ∞ AE : antiépileptiques
- ∞ AU : automate
- ∞ CBZ : carbamazépine
- ∞ DO : densité optique
- ∞ EA : enzyme accepteur
- ∞ ED : enzyme donneur
- ∞ HEPES : N-[2-hydroxyéthyl] pipérazine-N'-[acide 2-éthanesulfonique]
- ∞ GABA : acide gamma amino butyrique
- ∞ G-6-PDH : glucose-6-phosphate déshydrogénase
- ∞ Lyo : lyophilisé
- ∞ NAD : nicotinamide adénine dinucléotide
- ∞ PHT : phynétoïne
- ∞ STP : suivi thérapeutique pharmacologique
- ∞ T : température



Sommaire

☞ Liste des Abréviations	
☞ Introduction générale :.....	01
☞ Présentation générale du laboratoire	02
☞ Organigramme du laboratoire.....	04
☞ <u>PARTIE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE :</u>	
❖ Historique	06
<u>I -Les antiépileptiques :</u>	07
1- Introduction.....	07
2- Classification des médicaments antiépileptiques :.....	08
a)En fonction du point d'impact :.....	08
b) En fonction des caractéristiques structurales :.....	08
c) En fonction de leur efficacité :.....	09
d) En fonction des indications :.....	09
3- Mode d'action des médicaments antiépileptiques:.....	10
4- L'acide valproïque :.....	11
a) Structure chimique:.....	11
b) Propriétés physicochimiques :.....	11
c) Propriétés pharmacologiques :.....	12
d) Mode d'action:.....	13
<u>II –Le suivi thérapeutique pharmacologique des antiépileptiques :</u>	14
1) Introduction.....	14



2) Les modalités du suivi thérapeutique pharmacologique :.....	14
3) Les critères du suivi thérapeutique pharmacologique :.....	16
a) La variabilité interindividuelle :.....	16
b) La variabilité intra-individuelle.....	16
c) relation dose / concentration / effet thérapeutique:.....	17
d) Le concept d'écart thérapeutique :.....	17
4) La posologie et adaptation :.....	17
<u>III-Intérêt du suivi thérapeutique pharmacologique de l'acide valproïque :.....</u>	<u>19</u>
<u>IV- les méthodes de dosage :.....</u>	<u>20</u>
1) Méthodes chromatographiques :.....	20
2) Méthodes immunologiques :.....	21
a) Méthodes par compétition, en phase homogène.....	21
b) Méthodes par compétition, en phase hétérogène :.....	25
☞ <u>PARTIE II : PARTIE PRATIQUE :</u>	
I- Matériels et Méthodes.....	27
1) Processus général d'analyse.....	27
2) Processus du test de l'acide valproïque	30
3) Composition et préparation de réactifs.....	31
II-Résultats.....	32
1) Résultats de dosage des concentrations plasmatiques.....	32
a) Répartition selon les antiépileptiques.....	34
b) Répartition selon le sexe sous antiépileptiques.....	36
III- Analyse et discussion.....	37
1) Analyse statistique	37



a) Répartition selon le sexe.....	37
b) Répartition selon l'âge.....	38
c) Répartition selon le sexe et l'âge.....	40
d) Corrélation dose/ concentration ;.....	41
2) Exemples d'intérêt du suivi thérapeutique pharmacologique.....	43
a) Cas du suivi thérapeutique.....	43
b) Cas d'adaptation posologique.....	44
☞ Conclusion.....	46
☞ Liste des illustrations.....	47
☞ Référence :.....	50



Introduction générale

L'épilepsie est une affection souvent chronique, invalidante sur les plans physique, intellectuel, social, par le caractère imprévisible de ses crises ; elle nécessite donc un traitement prolongé astreignant, d'efficacité difficile et parfois toxique.

La plupart des antiépileptiques ont une marge thérapeutique étroite et une variabilité pharmacocinétique importante.

L'importance du Suivi Thérapeutique Pharmacologique tient aux questions cliniques auxquelles le dosage d'un AE peut aider à répondre. Les différentes raisons concrètes motivant le recours à un dosage médicamenteux. Sont :

- ❖ Réponse insuffisante du traitement
- ❖ Suspicion de toxicité.
- ❖ Interaction médicamenteuse
- ❖ Vérification de l'adéquation d'une posologie
- ❖ Recherche clinique: mesure des taux et détermination des relations dose-concentrations

Le dosage des médicaments se fait à l'aide des méthodes diverses. La méthode la plus utilisée est la méthode immunoenzymatique.

Ce suivi thérapeutique des antiépileptiques a pour but de déterminer la corrélation entre la dose et la concentration. Et déduire la posologie adéquate pour un patient, en prenant compte des facteurs génétiques notamment la pharmacocinétique de la population.



Présentation générale du laboratoire :



Photo n°1 : CHU Hassan II Fès



photo n°2 : le laboratoire central

Le Laboratoire Central d'Analyses Médicales est conçu comme un pôle d'activité hospitalière comportant plusieurs spécialités d'analyses médicales :

- Anatomie pathologique;
- Bactériologie-Immunoanalyses;
- Parasitologie;
- Biochimie et pharmaco-toxicologie;
- Hématologie;
- Génétique médicale et biologie moléculaire.

Il se compose de :

- Salle de réception;
- Salle de prélèvements;
- Laboratoire de biochimie/Pharmacotoxicologie;



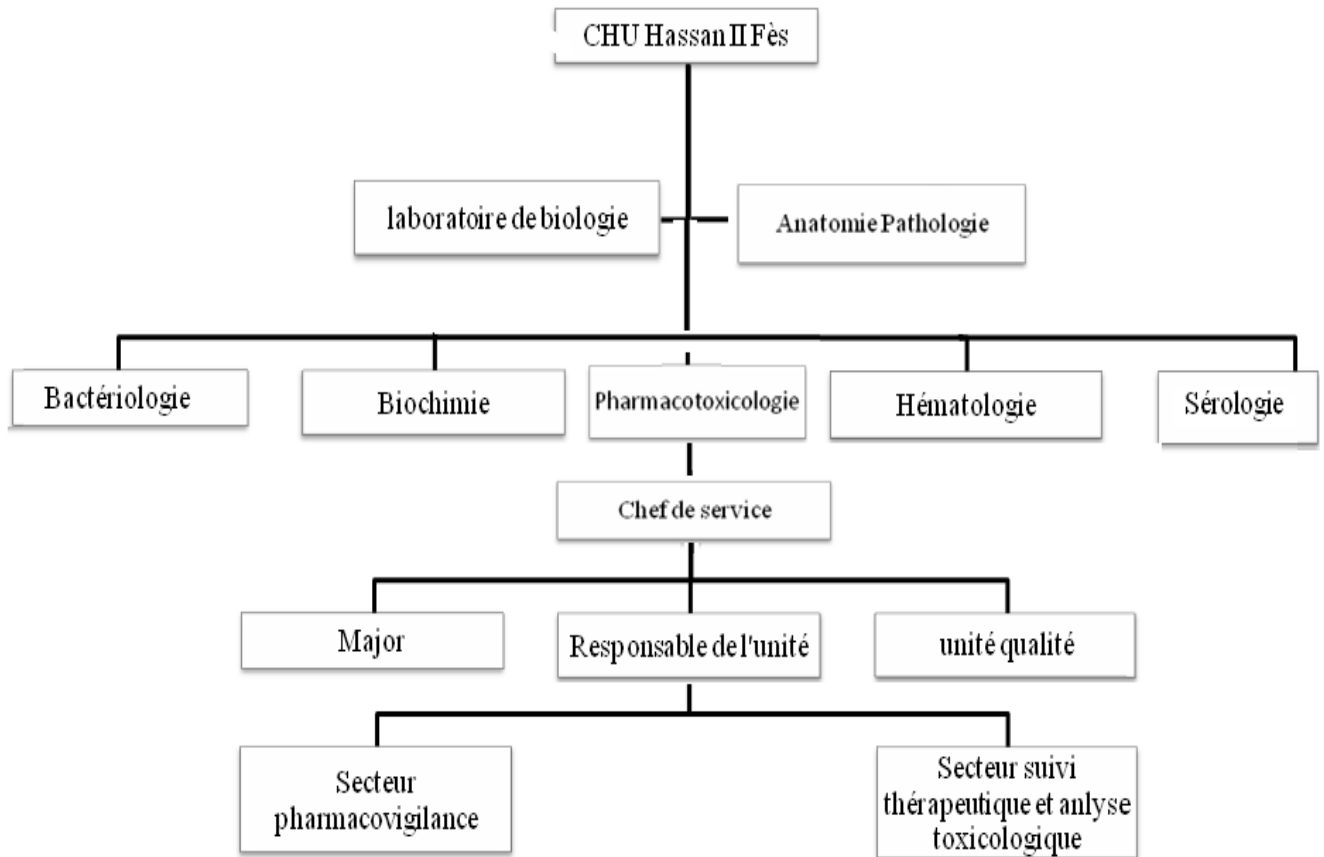
-
- Laboratoire d'hématologie;
 - Laboratoire de bactériologie /Immunologie;
 - Laboratoire de parasitologie;
 - Laboratoire de génétique;
 - Laboratoire d'anatomie pathologique.

Le laboratoire de biochimie dispose d'automates de dernière génération permettant de réaliser près de 100 analyses de biochimie courante, de protéines spécifiques et de **médicaments**. Il comporte également l'appareillage et les compétences nécessaires pour la réalisation des examens de pharmacologie et de toxicologie.

L'unité de pharmacologie a débuté en 2008, a pour objet la surveillance du risque d'effet indésirable résultant de l'utilisation des médicaments.



**Organigramme de l'unité de pharmacologie
de CHU –HASSAN II de Fès**





Partie I : partie bibliographique



Historique⁽¹⁾

Le traitement moderne d'épilepsie a commencé en 1850 avec l'introduction des bromures, basé sur la théorie que l'épilepsie a été causée par un désir sexuel excessif ¹.

En 1910, le phénobarbital, qui a ensuite été utilisé pour induire le sommeil, a été connu pour son activité anticonvulsivante, et il est devenu le médicament de choix pour de nombreuses années. Un certain nombre de médicaments semblables au phénobarbital ont été développés, y compris la primidone. Houston Merrit et Putnam Tracy ont présenté des modèles animaux de criblage de composés multiples de l'activité antiépileptique, (publié dans le *Journal de l'Association médicale américaine* en 1938). En 1940, la phénytoïne (PHT) s'est avéré être un médicament efficace pour le traitement de l'épilepsie, et depuis lors il est devenu une drogue première grande ligne antiépileptique dans le traitement des crises partielles et secondairement généralisées.

En 1968, la carbamazépine (CBZ) a été approuvée, d'abord pour le traitement de la névralgie du trijumeau, plus tard, en 1974, elle a été approuvée pour les crises partielles. Ethosuximide a été utilisé depuis 1958 comme médicament de premier choix pour le traitement des crises d'absence sans crises généralisées tonico-cloniques.

L'acide valproïque a été homologué en Europe en 1960 et aux États-Unis en 1978, il est maintenant disponible partout dans le monde. Il est devenu le médicament de choix dans le traitement des épilepsies généralisées. Et dans les années 1990 a été approuvé pour le traitement des crises partielles. Ces anticonvulsivants ont été les piliers du traitement d'épilepsie avant les années 1990, lorsque de nouveaux antiépileptiques avec une bonne efficacité, moins d'effets toxiques, une meilleure tolérance, et aucun besoin pour contrôler le niveau de sang ont été développés. Les nouveaux antiépileptiques ont été approuvés aux États-Unis comme traitement d'appoint seulement, à l'exception du topiramate et l'oxcarbazépine; lamotrigine est approuvé pour la conversion à la monothérapie.



I - Les antiépileptiques :

1- Introduction :

L'épilepsie est une pathologie connue depuis l'antiquité et encore assez répandue au sein de la population avec une prévalence de 0,5 à 1%.⁽²⁾ cette affection chronique est caractérisée par la survenue de crises convulsives dues à l'activation subite, intense et simultanée d'un grand nombre de neurones cérébraux. Elle nécessite donc un traitement prolongé astreignant d'efficacité difficile et parfois toxique.

Et on distingue deux grands types de crises d'épilepsie :

- ❖ **Les crises généralisées** : sont les plus impressionnantes. Elles se manifestent par une perte de connaissance avec chute, mouvements convulsifs, morsure de la langue
- ❖ **Les crises partielles** : Elles n'affectent que certaines parties du corps

Il faut également distinguer les origines des épilepsies :

- ❖ **Les épilepsies symptomatiques** : qui sont liées à des lésions cérébrales
- ❖ **Les épilepsies cryptogéniques** : présumées symptomatiques, mais dont la cause est inconnue.
- ❖ **Les épilepsies idiopathiques** qui concernent des sujets le plus souvent sans lésions cérébrales. Elles présentent un caractère génétique

Les médicaments antiépileptiques, encore appelés « anticonvulsants » ou « anticomitiaux », appartiennent à des classes chimiques diverses. Se sont des médicaments capables de supprimer ou de diminuer la fréquence et/ou la sévérité des crises d'épilepsie chez l'homme. Ils n'ont pas de propriétés curatives ; ce sont des médicaments symptomatiques. Leurs effets pharmacologiques sont nombreux et propres à chaque type de molécule.



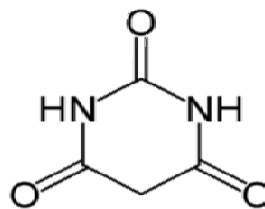
2- Classification des médicaments antiépileptiques :

a) En fonction du point d'impact :

- ❖ Inhibiteurs des canaux Na^+ : lamotrigine, Febamate.
- ❖ Gaba modulateur : Phénobarbital, benzodiazépines, Vigabatin, acide valproïque.
- ❖ Inhibiteurs des canaux Ca^{2+} : Ethosuximide

b) En fonction des caractéristiques structurales ⁽³⁾ :

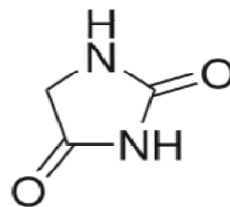
- ❖ **les barbituriques** : se sont des dérivés de l'acide barbiturique qui diminuent en général l'activité des membranes excitables. Se sont en fait des composés à longue durée d'action. Tels que : le phénobarbital et la primidone.



structure chimique d'acide barbiturique

2, 4, 6-(1H, 3H, 5H)-pyrimidinetrione

- ❖ **les hydantoïnes** : se sont des composants semblables aux barbituriques mais dépourvus d'effet hypnotique ; ils sont efficaces contre les crises. exp : PHT, éthosuximide, triméthadione.

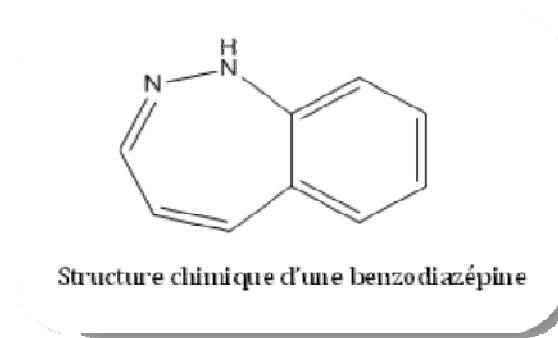


structure chimique d'hydantoïnes

2,4-imidazolidinedione



- ❖ **Les benzodiazépines:** sont employés principalement comme anxiolytiques et hypnotiques et leurs structures présentent une certaine ressemblance stérique avec la phénytoïne. Et on trouve : la carbamazépine, oxacarbazépine, diazépam, clonazépam.



1,2 benzodiazépine

c) **En fonction de leur efficacité**⁽⁴⁾ on distingue :

- ❖ **Les antiépileptiques majeurs :** suppriment la majorité des crises lorsqu'ils sont employés seuls (en monothérapie).
- ❖ **Les antiépileptiques mineurs :** ils peuvent agir seuls mais en général sont utilisés en association avec d'autres.

d) **En fonction des indications**⁽⁴⁾ et on distingue :

- ❖ **Les médicaments polyvalents** qui agissent sur toutes les crises. Exp : Clobazam, diazépam
- ❖ **Les médicaments agissant en association** sur l'épilepsie partielle et les crises tonico-cloniques. Exp : Topiramate, tiagabine
- ❖ **Les médicaments inactifs** sur le petit mal mais actifs sur les crises partielles et généralisées. Exp : Phénobarbital, Carbamazépine.
- ❖ **Les médicaments des absences** du petit mal.



3- Mode d'action des médicaments antiépileptiques ⁽⁵⁾:

Pour certaines molécules les mécanismes d'action sont connus, parfois multiples, et de nature très différente, mais pour d'autres, encore inconnus :

- ❖ effet stabilisateur des membranes cellulaires par blocages des canaux sodique voltage dépendants tel que phénobarbital, Carbamazépine, Acide valproïque.
- ❖ blocage des canaux calciques voltage dépendants.
- ❖ augmentation de l'action inhibitrice de l'acide gamma amino-butyrique (GABA) par action agoniste sur le récepteur chlore GABA A, par inhibition de la dégradation du GABA;
- ❖ inhibition de la libération d'acides aminés excitateurs (glutamate et aspartate).
- ❖ blocage au niveau des récepteurs au glutamate.

Il est important de noter que la fonction et la sensibilité de ces récepteurs peut varier au cours de la maturation cérébrale. On sait ainsi que le GABA a un rôle excitateur sur le système nerveux chez le rongeur nouveau-né alors qu'il a un rôle inhibiteur chez l'animal adulte. Par ailleurs, bien que les bénéfices du traitement d'une épilepsie sur un cerveau en développement soient démontrés cliniquement, il existe encore beaucoup d'inconnues concernant les effets de ces molécules neurotropes sur la maturation du système nerveux, les mécanismes de croissance dendritique, de sélection synaptique, ou de myélinisation ^(6,7).

Enfin, il devient de plus en plus clair que le polymorphisme de l'équipement enzymatique mais aussi des récepteurs cible de chaque individu, joue un rôle important dans la variabilité interindividuelle de la pharmacocinétique de ces médicaments, de leur efficacité et de leur tolérance ⁽⁸⁾.

4- L'acide valproïque (ACV):

a) Structure chimique:

- ❖ Formule brute : $(C_8H_{16}O_2)$.
- ❖ Nomenclature : acide 2-propylpentanoïque

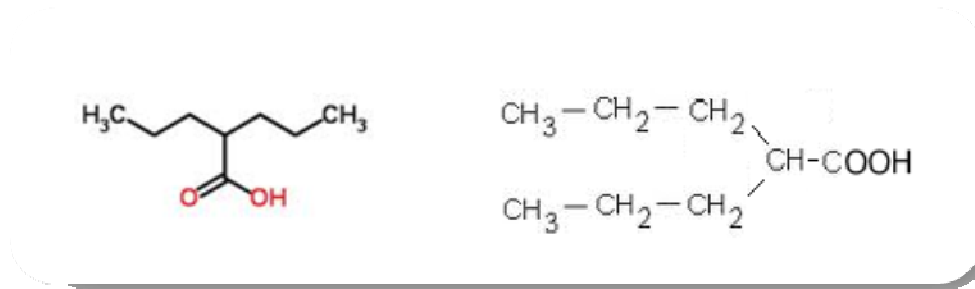


Figure 1 : schéma de la structure chimique de l'acide valproïque

C'est la structure d'un acide gras ramifié, l'acide dipropylactique, dont les propriétés antiépileptiques ont été découvertes fortuitement, cette molécule étant utilisée sous forme de sel le valproate de sodium.

b) Propriétés physicochimiques :

Tableau n°1 : propriétés physicochimiques d'acide valproïque

<u>Propriétés chimiques</u>	Formule brute	$C_8H_{16}O_2$
	Masse molaire	$144.21 \text{ g.mol}^{-1}$
	Pka	4,6
<u>Propriétés physiques</u>	T° d'ébullition	222°C
	solubilité	$2\ 000 \text{ mg.l}^{-1}$ (eau, 20°C)
	Masse volumique	0,92
	Point éclair	111°C



c) **Propriétés pharmacologiques :**

L'acide valproïque est une molécule à propriété anticonvulsante, efficace contre les types très variés de crises convulsives, en particulier les crises d'épilepsie. Et on distingue :

Propriétés pharmacocinétiques ^(9,10)

- ❖ **Absorption et Biodisponibilité:** après administration par voie orale, 100% de la dose ingérée de valproate de sodium est absorbée par le tube digestif et atteint la circulation générale.
- ❖ **Distribution :** l'acide valproïque est rapidement distribué dans les tissus bien irrigués : foie, rein, placenta.
 - ✓ **Liaison aux protéines:** il s'agit d'une molécule acide fortement liée aux protéines plasmatiques (80 à 90%). La liaison est diminuée dans l'insuffisance rénale, ce qui augmente les effets de la molécule, puisque la forme active est la forme libre non liée aux protéines. Ce phénomène se retrouve en cas d'ictère ou d'association avec des médicaments fortement liés.
 - ✓ **Volume de distribution:** est de 0,1 à 0,4 L/kg dans le sang du malade.
 - ✓ **Demi-vie :** elle est très variable d'un individu à l'autre (8 à 15 heures), parfois allongée chez le jeune enfant (18 à 20 heures), soit un état stable atteint après 3 à 4 jours de traitement. Elle diminue au cours du temps : plus le traitement est prolongé, plus la demi-vie diminue.
- ❖ **Métabolisation :** le métabolisme est à 90% hépatique, notamment en composés actifs^{19,}
²⁰.
- ❖ **Élimination :** elle est essentiellement rénale (80%), mais on ne retrouve que très peu de forme inchangée dans les urines (<10%).



œ propriétés pharmacodynamiques :

L'acide valproïque exerce ses effets pharmacologiques essentiellement au niveau du système nerveux central. Ses propriétés anticonvulsivantes s'exercent contre des types très variés d'épilepsies chez l'homme.

Les études expérimentales et cliniques du valproate suggèrent deux types d'action anticonvulsivantes.

- ✓ Le premier est un effet pharmacologique direct en relation avec les concentrations en valproate du plasma et du cerveau.
- ✓ Le second est apparemment indirect et vraisemblablement en relation avec des métabolites du valproate persistant dans le cerveau ou avec des modifications des neurotransmetteurs ou avec des effets membranaires directs. L'hypothèse la plus généralement admise est l'hypothèse de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) dont le taux augmente après administration de valproate.

d) Mode d'action⁽⁹⁾ :

L'Acide valproïque exerce ses effets pharmacologiques essentiellement au niveau du système nerveux central par 2 mécanismes :

- ❖ Tout d'abord un effet pharmacologique direct, lié aux concentrations en valproate du plasma et du cerveau.
- ❖ 2^{ème} mécanisme fait intervenir l'acide de Gamma amino-butyrique (GABA) : la crise d'épilepsie, au plan neurochimique, se traduit par excès de neurotransmetteurs excitateurs provoquant une dépolarisation prolongée et extensive d'un groupe de neurones, et par une diminution des neurotransmetteurs inhibiteurs (GABA et Glycine). L'ACV et certains de ses métabolites majorent l'effet inhibiteur du GABA par inhibition des enzymes de dégradation, en particulier la GABA-transaminase.



II –Le suivi thérapeutique pharmacologique des antiépileptiques :

La surveillance d'un traitement antiépileptique est un domaine où depuis de nombreuses années, le suivi thérapeutique a trouvé pleinement sa justification.

1) Introduction:

Le suivi thérapeutique pharmacologique est l'activité qui consiste à doser les concentrations sanguines des médicaments antiépileptiques et à les interpréter en fonction du terrain pour ajuster la dose administrée à chaque individu à l'aide de:

- ❖ Dosage de concentrations sanguines d'un antiépileptique.
- ❖ Interprétation des résultats en fonction des données.
- ❖ Proposition de l'adaptation posologique.

Les principaux buts qui justifient un suivi thérapeutique pharmacologique:

- ❖ Diminuer le taux d'Échec thérapeutique lié à une mauvaise observance (inefficacité du médicament).
- ❖ Réduire le taux et la fréquence des effets indésirables et/ou toxiques des antiépileptiques liés à une dose excessive (Suspicion de toxicité).

2) Les modalités du suivi thérapeutique pharmacologique :

Le suivi thérapeutique pharmacologique ne peut pas et ne doit pas se concevoir comme une simple activité de dosage des médicaments antiépileptiques, même si l'activité est particulièrement technique.

Un suivi doit être accompagné d'une interprétation des résultats et si possible une proposition d'adaptation posologique.



Trois cas peuvent se présenter lors d'un traitement pharmacologique:

- ✓ Bon contrôle
- ✓ Inefficacité
- ✓ Apparition de signes de surdosage.

Les modalités du suivi thérapeutique pharmacologique sont :

❖ **Modalités de prélèvement**

- ✓ Nature : sang (2ml).
- ✓ Contenant : tube sans gel séparateur, sec ou hépariné, contenant l'oxalate ou l'EDTA (acide éthylène diamine tétracétique) si compatible avec la méthode de dosage.
- ✓ Date et heure particulières où le prélèvement doit être fait : Surveillance thérapeutique : résiduel (avant la prise) à l'équilibre des concentrations.
- ✓ Renseignements cliniques indispensables : date de début de traitement (principalement si récent), posologie, traitements associés.

❖ **Acheminement de l'échantillon**

- ✓ Conserver de préférence l'échantillon au réfrigérateur de 2 à 8 °C avant l'acheminement proprement dit, qui peut se faire à température ambiante.

❖ **Prétraitement et conservation pré-analytique**

- ✓ Centrifuger et séparer sérum ou plasma pour un dosage différé
- ✓ Conservation du sérum ou du plasma:
 - ✓ 2-8 °C pendant 1 semaine.
 - ✓ -20 °C au-delà de 1 semaine.

❖ **Délai maximal admissible avant analyse**

- ✓ Surveillance thérapeutique : 48h en moyenne pour les patients consultants, dans la journée pour les patients hospitalisés, fonction de l'intérêt clinique.
- ✓ En cas de convulsions : analyse en urgence
- ✓ Surdosage thérapeutique : l'analyse en urgence reste exceptionnelle.
- ✓ Intoxication massive : analyse en urgence.



❖ **Interprétation du résultat :**

Analyser et interpréter le résultat selon les données et les normes.

3) Les critères du suivi thérapeutique pharmacologique :

a) La variabilité interindividuelle :

- ❖ La même dose de l'acide valproïque ne produit pas la même concentration et parfois ne produit pas la même nature des effets chez tous les patients traités, à cause de :
 - ✓ Pharmacogénétique : conséquences des variations cinétiques et dynamiques héréditaires en termes d'efficacité et toxicité
 - ✓ Sexe : la physiologie de l'homme est différente de celle de la femme
 - ✓ Poids
 - ✓ Métabolisation
 - ✓ Age : avec l'âge il y a défaillance des organes.

b) La variabilité intra-individuelle:

- ❖ Existence de la variabilité en pharmacocinétique
 - ✓ absorption,
 - ✓ distribution,
 - ✓ métabolisation,
 - ✓ élimination.
- ❖ Existence d'une faible marge thérapeutique.

De plus d'autres facteurs peuvent modifier l'intensité de l'action pharmacologique.



- ✓ La réponse spécifique tissulaire,
- ✓ l'association d'un autre médicament,
- ✓ les différents états pathologiques.

c) relation dose / concentration / effet thérapeutique:

- ❖ Il existe une meilleure corrélation entre l'intensité de l'action pharmacologique des AE et leurs concentrations plasmatiques qu'avec leur posologie.
- ❖ La relation concentration effet antiépileptique serait faible. La zone de concentration efficace est large.

d) Le concept d'écart thérapeutique :

- ❖ Pour une posologie d'un AE, il existera toujours une concentration trop petite pour produire un effet pharmacologique, mais également une très grande qui entrainera un effet maximal et des effets toxiques.
- ❖ Ce concept est lié aussi au phénomène de la variabilité interindividuelle mais également entre les populations.
- ❖ Ecart thérapeutique n'est défini que chez une population donnée selon un concept de probabilité et ne sert donc que comme pont de référence. Ainsi chez certaines populations, des concentrations élevées devront être atteintes afin d'obtenir l'effet pharmacologique désiré, alors que pour d'autres des concentrations beaucoup plus basses seront souhaitables afin d'éviter l'apparition des effets toxiques.

4) La posologie et adaptation :

La marge thérapeutique des antiépileptiques est faible : la posologie nécessaire pour le contrôle des crises est proche de celle entraînant des effets indésirables. Le pilotage du traitement antiépileptique doit donc intégrer les principes de lenteur et d'individualisation



(gravité de l'affection, comorbidités, pharmacocinétique du produit et paramètres qui l'influencent, âge, poids).

Une fois l'indication au traitement posée et le choix du médicament effectué rationnellement en fonction du type et de la sévérité de l'épilepsie, la posologie initiale doit être faible et l'augmentation des doses progressive afin de permettre l'adaptation de l'organisme aux effets centraux des médicaments utilisés. Il faut regretter la pauvreté des données sur la titration des antiépileptiques lors des études cliniques. Comme observé avec de nombreux autres médicaments, les dosages initialement recommandés sont fréquemment beaucoup plus élevés que ceux requis et il en va de même des effets indésirables^(11,12).

Il existe 4 stratégies d'adaptation posologique par suivi thérapeutique pharmacologique :

- ❖ Règle de trois
- ❖ Raisonnement des paramètres pharmacologique physiologique
- ❖ Régression non-linéaire
- ❖ Adaptation bayésienne.

La méthode qu'on utilise c'est **la règle de trois** :

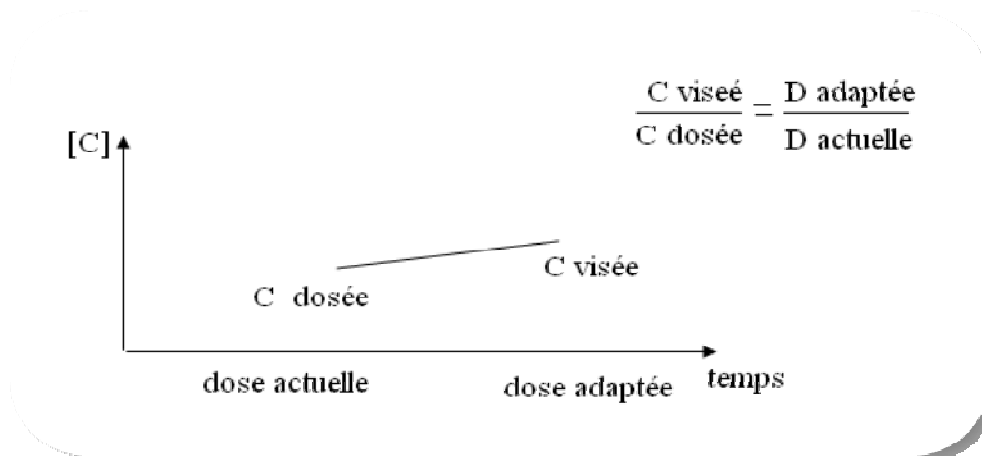


Figure : schéma représentatif de la règle de trois



III-Intérêt du suivi thérapeutique pharmacologique de l'acide valproïque¹³

Le dosage de l'ACV peut être nécessaire car le rapport posologie/ concentration plasmatique à l'équilibre varie selon la dose de l'individu.

Le dosage est indiqué :

- ❖ En cas de non efficacité du traitement.
- ❖ En cas d'association de plusieurs antiépileptiques : l'effet inducteur de la CBZ, du phénobarbital, de la PHT, de la primidone entraîne une diminution de la concentration plasmatique en valproate de sodium.
- ❖ En cas d'association avec des médicaments non antiépileptiques, pouvant modifier le métabolisme de l'acide valproïque. (Exp : les antidépresseurs diminuent le seuil épileptogène).
- ❖ En cas d'insuffisance hépatique car l'acide valproïque est fortement métabolisé par le foie.
- ❖ En cas de modification de la liaison de l'acide valproïque aux protéines : la fraction libre active est alors augmentée par :
 - ✓ Baisse de l'albumine.
 - ✓ Compétition avec la bilirubine en cas d'ictère.
 - ✓ Insuffisance rénale (diminution de la liaison aux protéines).
 - ✓ Compétition avec d'autres médicaments fortement liés aux protéines (PHT, CBZ, anti-inflammatoires non stéroïdiens, salicylés).
 - ✓ L'état du sujet :
 - chez le sujet âgé, la fraction libre circulante est augmentée,
 - pendant la grossesse, la fraction augmente aussi.



- ❖ En cas d'apparition de signes de surdosage (ataxie, nystagmus, somnolence, confusion, vertiges, troubles visuels).

Les dosages plasmatiques permettent une meilleure adaptation de la posologie et sont nécessaires compte-tenu de la complexité et de la variabilité inter et intra-individuelle de la pharmacocinétique du valproate de sodium, même s'il est l'antiépileptique le plus facile à utiliser.

IV- les méthodes de dosage :

1) Méthodes chromatographiques ⁽¹⁴⁾ :

a) Chromatographie en phase gazeuse :

La chromatographie en phase gazeuse a été la première technique utilisée pour le dosage de l'acide valproïque, en raison de la structure et de la grande volatilité de cette molécule.

L'étape séparative est réalisée sur une colonne contenant une phase stationnaire liquide ou solide tandis qu'un flux de gaz vecteur réalise l'élution des composés et les entraîne vers un détecteur. Après introduction des molécules à séparer dans la colonne, les molécules vont se répartir entre la phase stationnaire et la phase gazeuse.

La séparation des molécules va reposer sur un gradient de température appliquée à la colonne. Les molécules ayant le plus d'affinité pour la phase stationnaire y séjournent plus longtemps, atteignant le détecteur plus tardivement. Celui-ci produira alors un signal proportionnel à la quantité de molécule à doser. Dans des conditions prédéfinies de chromatographie, chaque produit sera caractérisé par un temps de rétention caractéristique de ce composé.

La chromatographie en phase gazeuse est utilisée pour les molécules volatiles et thermostables compte tenu des températures élevées utilisées dans cette méthode.



b) Chromatographie liquide à haute performance :

La chromatographie liquide à haute performance est moins facile à employer, car l'acide valproïque a une faible absorbance en UV.

Dans la chromatographie liquide, une phase mobile constituée par un mélange de solvants traverse une colonne contenant la phase stationnaire constituée de billes de faible diamètre (le plus souvent inférieur à 5 μM). La séparation des composés de l'échantillon peut être améliorée en appliquant un gradient de solvants au sein de la phase mobile au cours de la chromatographie.

La chromatographie liquide permet l'accès au dosage de molécules instables thermiquement ou non volatiles.

Ces techniques permettent la mise en évidence de la molécule-mère et de nombreux métabolites.

2) Méthodes immunologiques ^(15,16,17):

Il existe de nombreuses méthodes immunologiques commercialisées pour le dosage de l'ACV. C'est en effet un haptène contre lequel on peut fabriquer des anticorps soit monoclonaux, soit polyclonaux. Il s'agit de méthodes utilisant la réaction antigène /anticorps, fondées sur la compétition entre les molécules d'ACV présentes dans de spécimen et des molécules d'ACV marquées (conjugué) par une enzyme, un fluorophore, un composé luminescent ou des microparticules, vis-à-vis d'anticorps anti acide valproïque en quantité limitée.

a) Méthodes par compétition, en phase homogène

Toutes les étapes de la réaction se déroulent simultanément dans le milieu réactionnel

❖ Marqueurs enzymatiques :

➤ EMIT (Enzyme Multiplied Immunoassay Technic):

L'acide valproïque du spécimen entre en compétition pour l'anticorps avec l'acide valproïque marqué à la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH). Lorsque

l'anticorps bloque le site antigénique du conjugué, il bloque également le site enzymatique donc l'activité G-6-PDH du conjugué. L'activité enzymatique résultante est donc directement proportionnelle à la quantité d'acide valproïque présente dans le spécimen.

L'activité de la G-6-PDH est mesurée par la vitesse d'oxydation de son substrat, le glucose-6-phosphate et par vitesse de réduction simultanée du NAD en NAD réduit absorbant à 340 nm. Cette méthode développée par Syva est commercialisée par Dade Behring (ACA, Cobas Mira) et Bayer (Immuno). Les réactifs peuvent être adaptés sur d'autres automates de biochimie.

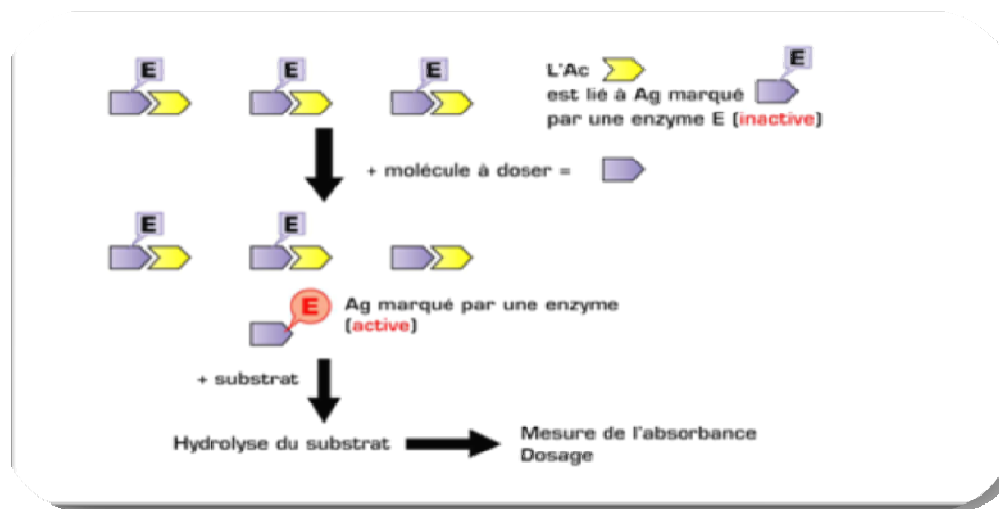


Figure 2 : principe de la méthode EMIT

➤ **CEDIA (Cloned Enzyme Immuno Donor Assay):**

Cette méthode est basée sur l'utilisation d'une enzyme bêta-galactosidase bactérienne scindée en 2 fragments inactifs par génie génétique : un fragment enzyme accepteur (EA) qui correspond à environ 90% de la séquence de la bêta-galactosidase et un fragment enzyme donneur (ED) qui correspond à la séquence manquante. L'association spontanée des 2 fragments donne une bêta-galactosidase active. L'ACV du spécimen entre en compétition pour l'anticorps avec l'ACV marqué avec le fragment enzyme donneur. Lorsque l'anticorps bloque le site antigénique du conjugué, il bloque également le fragment enzyme donneur qui ne peut plus se réassocier aux fragments enzyme accepteur. L'activité

enzymatique résultante, liée à la réassociation des fragments inactifs EA et ED est donc directement proportionnelle à la quantité d'acide valproïque présente dans le spécimen. L'activité de la bêta-galactosidase est mesurée par action sur son substrat, le rouge de chlorophénol-bêta-galactopyranosidase : le produit de réaction, bêta-galactoside du rouge de chlorophénol est mesurée à 750 nm. Cette méthode développée par Microgenics Corporation est commercialisée par Roche Boehring (Hitachi). Les réactifs peuvent être adaptés sur d'autres automates de biochimie.

❖ Marqueurs fluorescents :

➤ **FPIA (Fluorescence Polarisation Immuno Assay) :**

Le marquage de la molécule est réalisé par un colorant fluorescent. La révélation du complexe antigène-anticorps est basée sur la différence de rotation de la lumière induite par la forme libre ou liée de la molécule marquée.

À l'état libre, la molécule marquée tourne librement et rapidement induisant une polarisation faible. Lorsqu'il n'y a pas de molécule à doser, la molécule marquée se fixe sur l'anticorps, formant une grosse molécule à rotation faible, induisant une polarisation élevée de la lumière incidente.

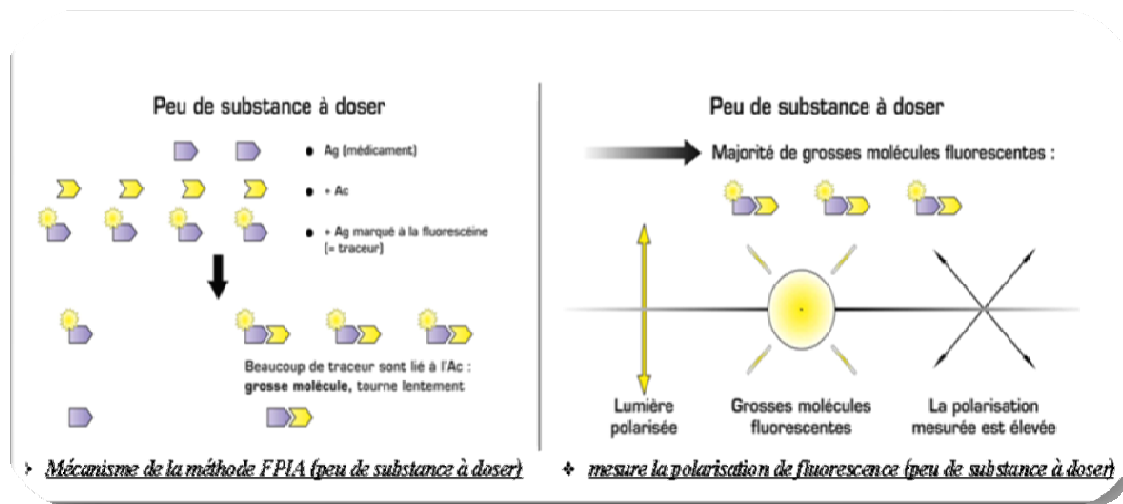


Figure 3a : la méthode FPIA mécanisme et mesure (peu de substance à doser)

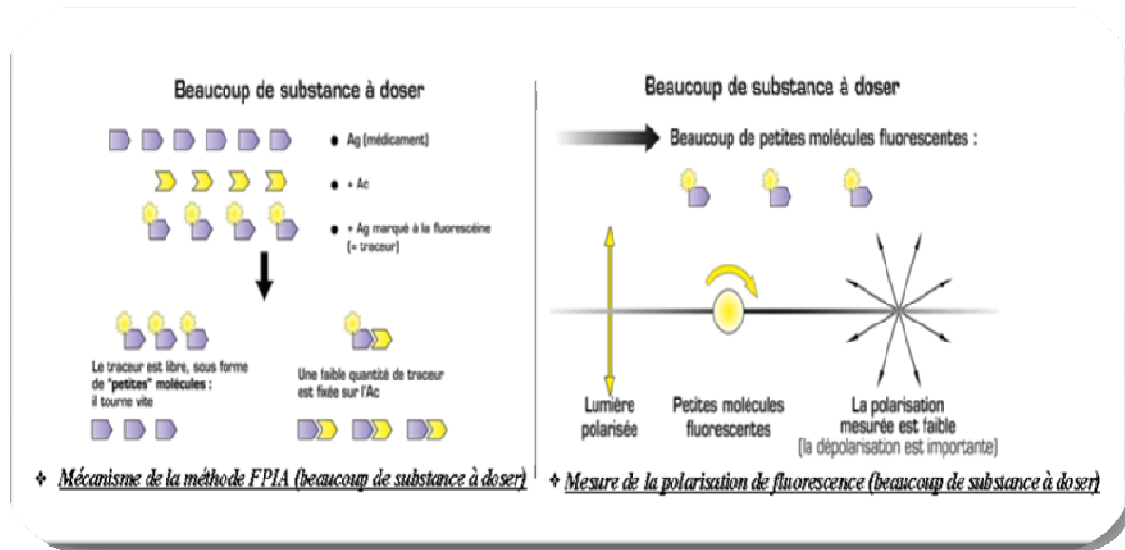


Figure 3b : la méthode FPIA mécanisme et mesure (beaucoup de substance à doser)

b) Méthodes par compétition, en phase hétérogène :

Il y a séparation des formes libres et des formes liées aux anticorps.

➤ FIA (Fluorescence Immuno Assay) :

il s'agit d'une méthode immunologique utilisant un support réactionnel constitué d'un film multicouches : trois couches sont fixées sur un film polyester : une couche filtrante contenant des tampons et surfactants, une couche écran contenant de l'oxyde de fer empêchant les haptènes fluorescents libérés d'être excités par le rayon lumineux, une couche réactive contenant les haptènes marqués aux anticorps et un film polyester servant de support de base de 3 autres couches. Il y a compétition au niveau de la couche réactive entre l'ACV marqué par fluorochrome (dérivé de la rhodamine) et l'acide valproïque du spécimen pour l'anticorps antiacide valproïque fixé sur le film. Seul le conjugué fixé de l'anticorps reste au niveau de la couche réactionnelle : il est séparé des molécules conjuguées libres par une couche écran. L'intensité de fluorescence émise est inversement proportionnelle à la quantité d'acide valproïque de l'échantillon.



Partie II : partie pratique



I. Matériels et Méthodes :

Olympus (automate AU640), réalise une analyse automatisée des échantillons de sérum, de plasma, urine, liquide organiqueetc. il mesure les différents composants de l'échantillon et génère automatiquement les résultats.



Photo n°3 : l'appareil Olympus (automate)

1) Processus général d'analyse :

Le système d'automate procède à l'analyse comme suit :

- ❖ On place les échantillons dans les portoirs. Ces derniers pénètrent dans le système.



Photo n° 4 : les portoirs placés dans le système



- ❖ Le système lit un code-barres placé sur chaque portoir lors du passage de ce dernier sur le tapis de chargement. Ce code indique au système le type d'échantillon (sérum, urine, ou autre) et la manière dont chacun doit être testé.
- ❖ Une seringue robotisée distribue le réactif 1 dans une cuvette placée sur un rotor cuvette. Une certaine quantité d'eau déminéralisée est ajoutée afin de le diluer. Ces deux liquides sont ensuite mélangés.



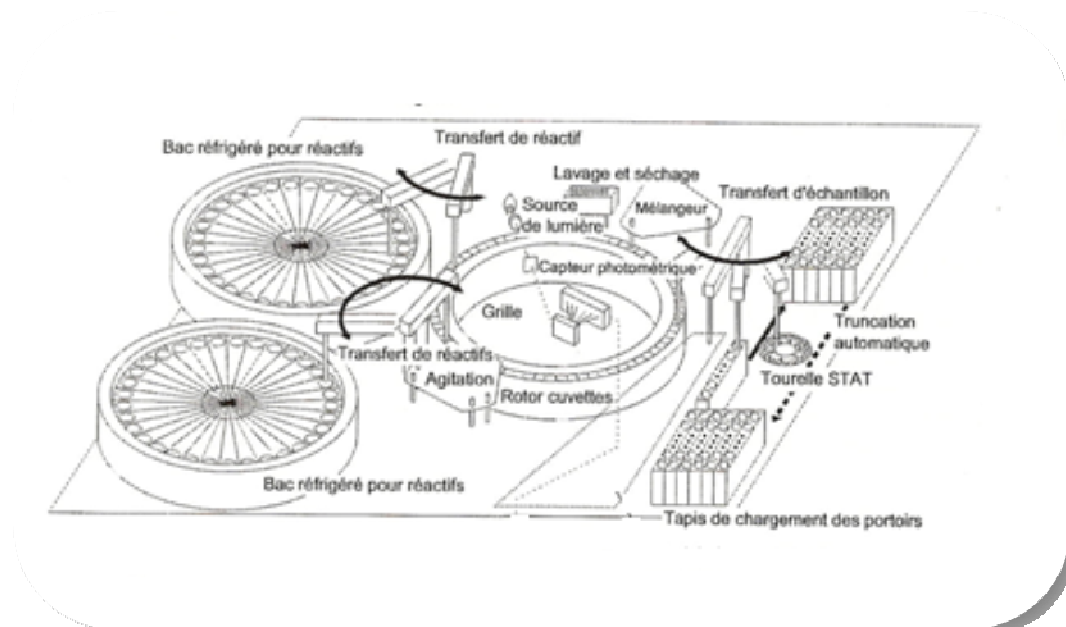
Photo n°5 : les seringues de distribution des réactifs

- ❖ Un faible volume de l'échantillon est ensuite similairement prélevé du tube de l'échantillon et transféré dans la cuvette.



Photo n°6 : la seringue de distribution de l'échantillon

- ❖ Ces liquides sont alors mélangés pour produire un liquide homogène.
- ❖ Une autre seringue ajoute le réactif 2 dans la cuvette et mélange de nouveau les liquides.
- ❖ Le mélange passe devant le photomètre. Une lumière blanche traverse le mélange afin d'en mesurer la densité optique (DO).
- ❖ Une réaction se produit entre le réactif et la substance à analyser contenue dans l'échantillon. Cette réaction modifie la DO mesurée. (voir système photométrique)
- ❖ Le mélange réactif est aspiré de la cuvette et cette dernière est nettoyée et séchée avant d'être repositionnée pour le transfert des échantillons.



gure 4 : schéma de processus général d'analyse

Fi

☞ Système et mesure photométrique :

- ❖ Le système photométrique comprend une lampe générant la source de lumière blanche (voir figure). la puissance produite est d'environ 12V /20W.

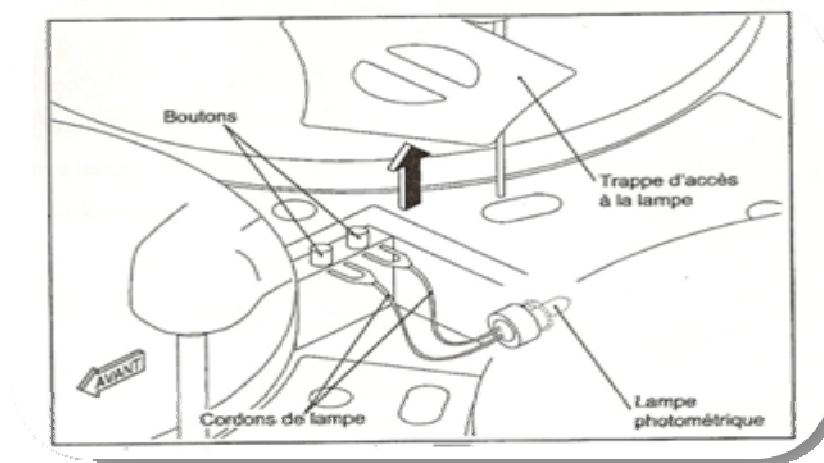


Figure 5 : schéma de système photométrique

- ❖ lorsqu'un réactif est ajouté à un échantillon, la réaction obtenue provoque une variation optique du mélange. La mesure de la variation de DO de ce mélange permet de calculer le résultat des concentrations des médicaments antiépileptiques.

La concentration de la substance à analyser en cours de mesure est proportionnelle à la variation optique. La DO se détermine en faisant passer un rayon de lumière blanche à travers le mélange et en mesurant le volume absorbé. Cette valeur permet ensuite de calculer le résultat de différentes concentrations.

2) Principe du test de l'acide valproïque¹⁸ :

Le dosage de l'acide valproïque est basé sur l'enzyme bactérienne β -galactosidase, qui a été génétiquement modifiée en deux fragments inactifs. Ces fragments se réassocient



spontanément pour former une enzyme entièrement active qui, dans le format du dosage, coupe un substrat, produisant un virage de couleur mesurable par spectrométrie.

Dans le dosage, l'analyte présent dans l'échantillon entre en compétition avec l'analyte conjugué à un fragment inactif de β -galactosidase pour le site de liaison des anticorps.

- Si l'analyte est présent dans l'échantillon, il se lie à l'anticorps, laissant les fragments d'enzyme inactifs libres de former une enzyme active.
- En l'absence d'analyte dans l'échantillon, l'anticorps se lie à l'analyte conjugué sur le fragment inactif, inhibant à la réassociation des fragments inactifs de β -galactosidase et aucune enzyme active ne se forme.

La quantité d'enzyme active formée et le changement d'absorbance résultant sont directement proportionnels à la quantité de substance présente dans l'échantillon.

3) Composition et préparation de réactifs :

❖ Composition des réactifs :

- R1 Buffer : HEPES tampon (N-[2-hydroxyéthyl] pipérazine-N'-[acide 2-éthane sulfonique]), stabilisant et conservateur
- R1 lyo : accepteur d'enzyme, anticorps anti-acide valproïque monoclonal de souris, salicylate de sodium, sels de tampon et conservateur.
- R2 Buffer : HEPES tampon (N-[2-hydroxyéthyl] pipérazine-N'-[acide 2-éthane sulfonique]), stabilisant et conservateur
- R2 lyo : donneur d'enzyme conjugué à l'acide valproïque, rouge de chlorophénol β -D-galactopyranoside, anticorps anti-souris de chèvre, sels de tampon, stabilisant et conservateur.



❖ **Préparation des solutions:**

➤ ***R1 solution d'accepteur d'enzyme :***

- ✓ On mélange le R1 lyophilisé avec R1 tampon.
- ✓ On agite par inversion lente.
- ✓ Laisser reposer pendant 5 min entre 15 à 25 °C.
- ✓ Placer le flacon directement dans le compartiment à réactif de l'analyseur.

➤ ***R2 solution de donneur d'enzyme :***

- ✓ On mélange le R2 lyophilisé avec R2 tampon.
- ✓ On agite par inversion lente.
- ✓ Laisser reposer pendant 5 min entre 15 à 25 °C.
- ✓ Placer le flacon directement dans le compartiment à réactif de l'analyseur.

II. Résultats :

Ces résultats présentent le travail effectué lors du stage réalisé pour le suivi thérapeutique pharmacologique des antiépileptiques, notamment :

- ✓ Acide valproïque
- ✓ Carbamazépine
- ✓ Phénobarbital

L'étude a été menée sur une période d'environ 5 mois (du 15 janvier au 31 mai).



1) Résultats du dosage des concentrations plasmatiques :

On a effectué le dosage du taux plasmatiques des différents médicaments antiépileptiques.

Le tableau ci-dessous représente les différentes concentrations trouvées :

Tableau n°2 : résultats de dosage des concentrations plasmatiques

N°	Molécule dosée	Posologie mg/jr	La concentration mg/l	Commentaire*
1	Acide valproïque	300	49,6	Taux un peu faible
2	Acide valproïque	?	6,3	Taux faible
3	Carbamézépine	?	0	Le patient ne prend pas son traitement
4	Phénobarbital	?	20,9	Normal
5	Phénobarbital	?	21,6	Normal
6	Carbamazépine	?	8 ,3	Normal
7	Phénobarbital	?	14,3	Normal
8	Acide valproïque	?	21,4	Taux bas
9	Acide valproïque	?	24 ,6	Taux bas
10	Acide valproïque	210	63,5	Normal
11	Acide valproïque	210	89	Normal
12	Acide valproïque	?	38,7	Taux un peu faible
13	Acide valproïque	?	48,3	Taux un peu faible
14	Acide valproïque	?	63	Normal
15	Acide valproïque	600	53,1	Normal
16	Phénobarbital	300	20,9	Taux faible



17	Acide valproïque	300	75,9	Normal
18	Acide valproïque	300	73,8	Normal
19	Phénobarbital	20	0,1	Taux trop bas
20	Acide valproïque	200	24,6	Taux faible
21	Acide valproïque	200	37,1	Taux faible
22	Acide valproïque	500	39,5	Taux faible
23	Acide valproïque	1150	80,1	Normal
24	Acide valproïque	?	118	Taux un peu élevé
25	Acide valproïque	1000	60	Normal
26	Acide valproïque	200	50,3	Normal
27	Acide valproïque	500	60,1	Normal

*fourchette thérapeutique en mg /l de :

- ✓ Carbamazépine : 6– 12mg/l
- ✓ Phénobarbital : pour adulte : 10-40mg/l / pour enfant : 20-60mg/l
- ✓ Acide valproïque : 50-100 mg/l

D'après les résultats de ces dosages on remarque que le même dose d'antiépileptique ne produit pas la même concentration plasmatique chez tout les patients.

Par exemple : le cas n°1 et le cas n°17 prend la même posologie mais les concentrations du taux plasmatiques est très différentes

⇒ Ce résultat peut s'expliquer par la variabilité intra et interindividuelle des patients (différence d'âge, de sexe, de poids, métabolisme.....ect)



a) Répartition selon les antiépileptiques :

Tableau n° 3 : répartition des antiépileptiques dosés

	Nombre	Proportions
total acide valproïque	20	74%
total phénobarbital	5	19%
total carbamazépine	2	7%
total antiépileptiques	27	100%

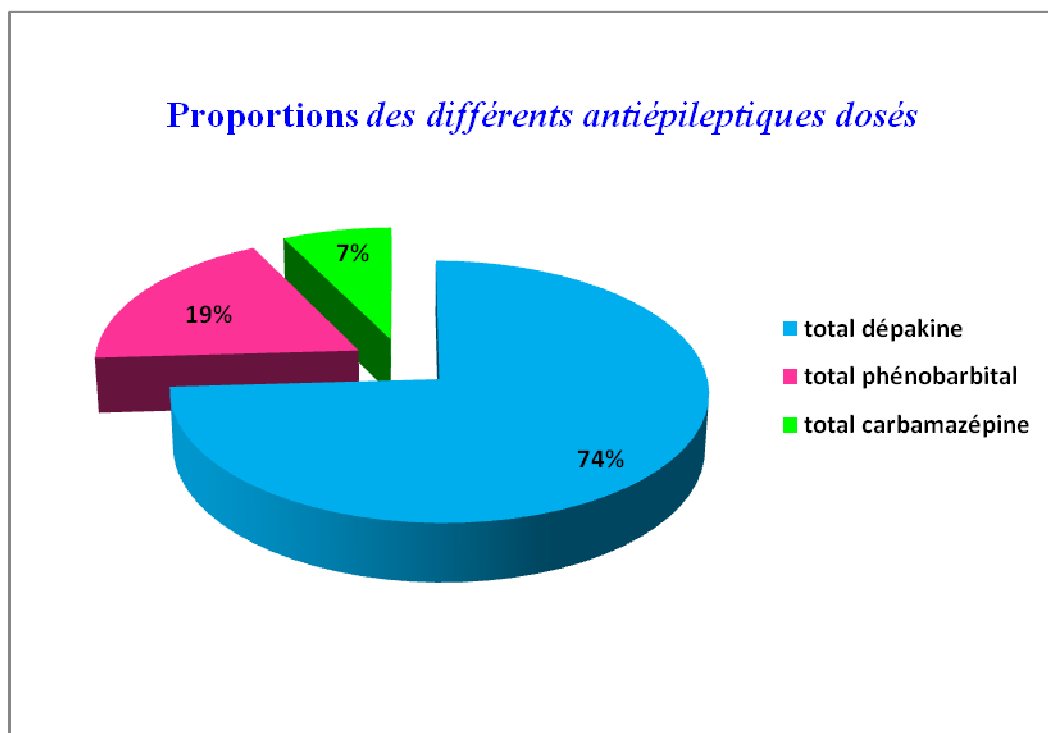


Figure 6 : schéma de répartition des antiépileptiques dosés

D'après ces résultats on a trouvé:



- ❖ Pour le phénobarbital (5 cas), avec un pourcentage de 19%.
- ❖ Pour la carbamazépine (2 cas) avec un pourcentage de 7%,

⇒ **Malheureusement, avec ces données on ne peut pas faire des analyses statistiques.**

- ❖ Pour l'acide valproïque on a trouvé 20 cas dont 13 avec toutes les données nécessaires pour faire les statistiques et chercher la corrélation entre la dose prise et la concentration dosée.

b) Répartition selon le sexe sous antiépileptiques :

Tableau n° 4 : répartition de sexe sous antiépileptiques

	nombre	proportions
total femme	8	30%
total homme	19	70%
total patient	27	100%

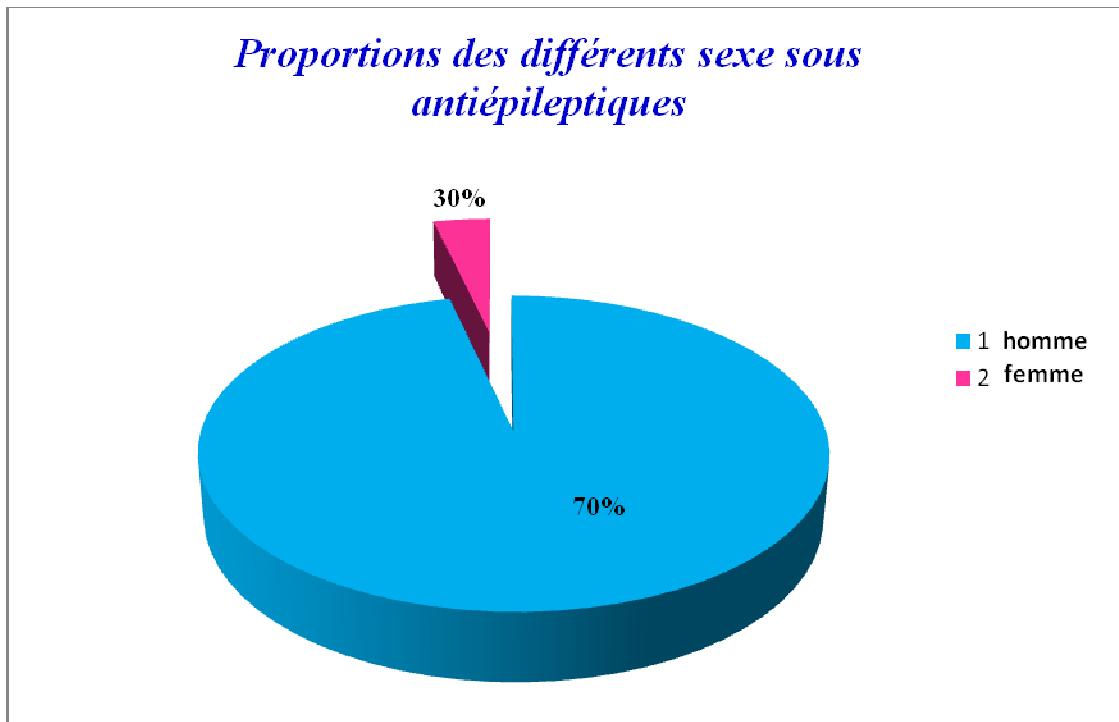


Figure 7 : schéma de proportions de sexe sous antiépileptiques

D'après ces résultats, on constate que le nombre d'homme sous antiépileptiques est plus élevé (70% du sexe masculin est sous antiépileptiques) que le nombre de femme sur le même traitement (30% du sexe féminin sous antiépileptiques).

⇒ Cette prédominance semble s'expliquer par le fait que souvent les hommes consomment plus que les femmes l'alcool, le tabac, ou d'autres drogues.

Ces facteurs sont connus pour déclencher les crises d'épilepsie.

III. Analyse et discussion:

1) Analyse statistique :

a) Répartition selon le sexe

Tableau n° 5 : répartition de patient selon le sexe

	Nombre	Proportions
total male♂	17	85%
total femelle♀	3	15%
total patient	20	100%

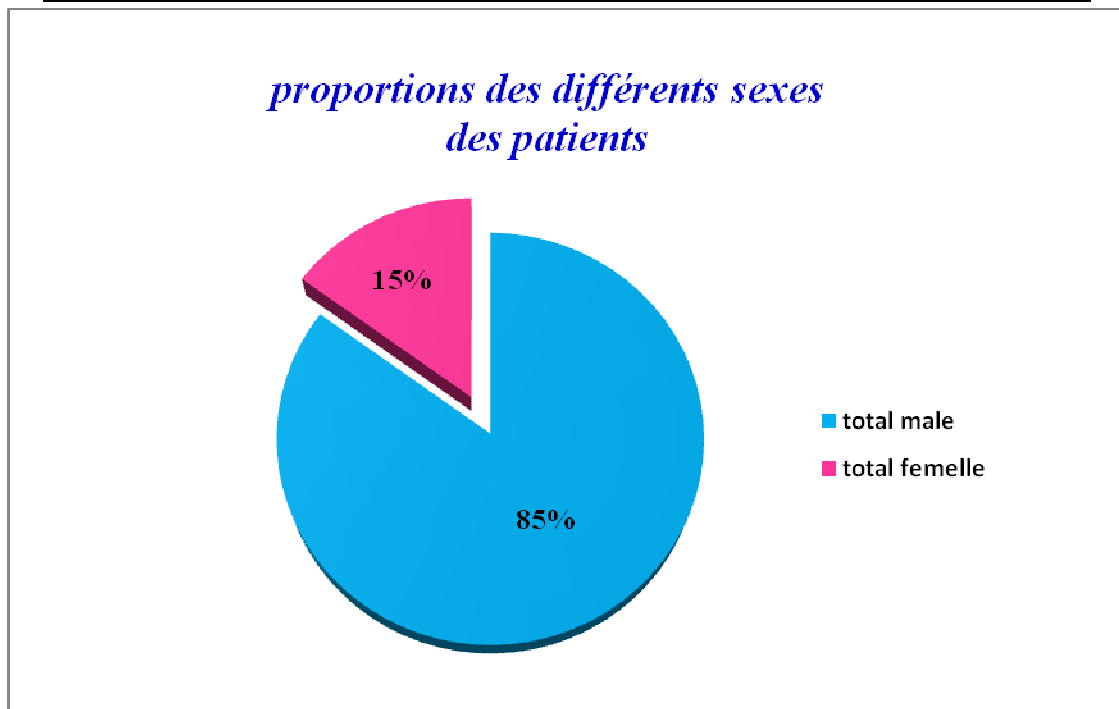


Figure 8: schéma de proportions des différents sexes des patients

Dans cette étude, nous avons constaté que le sexe masculin est plus sous le traitement par l'acide valproïque avec 17 cas (85%), alors que le sexe féminin ne représente que 3 cas (15%).

Cette grande différence peut s'expliquer par le fait que :

⇒ l'acide valproïque est moins prescrit pour les femmes puisqu'il multiplie la fréquence de base des malformations des fœtus.

En effet, la fréquence des risques malformatifs est proportionnelle à la posologie d'acide valproïque. Pour une posologie supérieure à 1 g/j le risque est majeur²¹

b) Répartition selon l'âge :

Tableau n° 6 : répartition de patient selon l'âge

	Nombre	Proportions
total enfant	11	55%
total adulte	9	45%
total patient	20	100%

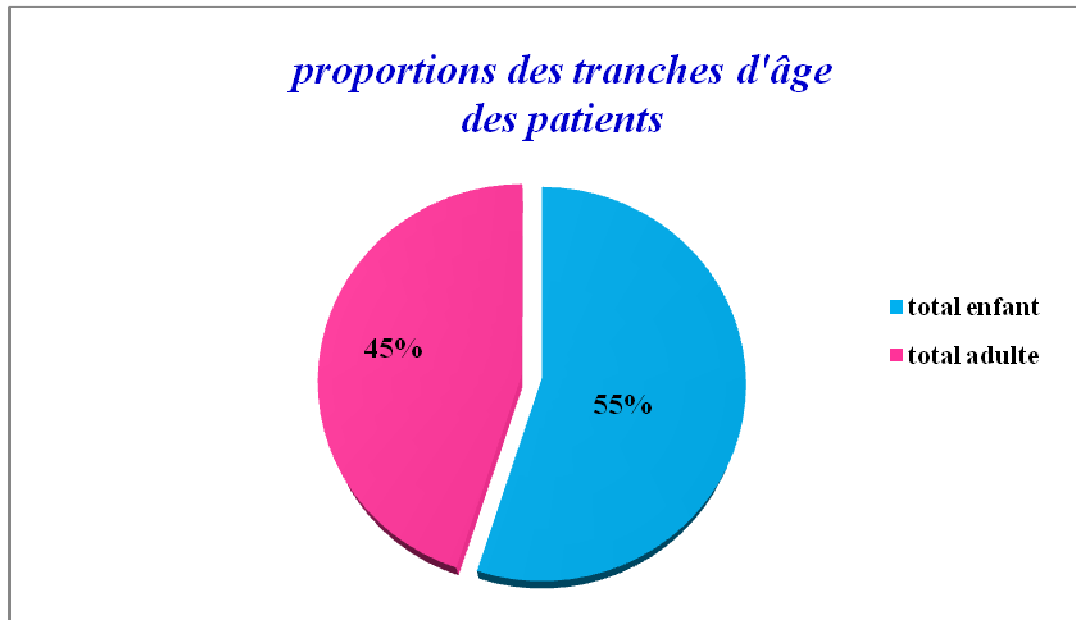


Figure 9 : schéma de proportions des tranches d'âge des patients

Dans cette enquête, il s'agit de préciser la tranche d'âge, en effet sur les 20 cas recensés, 11 cas (55%) enfants prenaient de l'acide valproïque, et 9 cas (45%) adulte sous la même molécule.

On peut expliquer la prédominance des enfants par :



⇒ Les circuits neuronaux des enfants ne sont pas matures (en cour de développement), bien que lors d'une crise d'épilepsie, les neurones (cellules cérébrales) produisent une décharge électrique anormale dans certaines zones cérébrales.

⇒ Les causes qui provoquent les crises d'épilepsie

- ✓ Blessures à la tête qui surviennent pendant l'accouchement
- ✓ Infections telles que : la méningite, ou l'encéphalite

c) **Répartition selon l'âge et le sexe :**

Tableau n° 7: répartition de patient selon l'âge et le sexe

	enfant	adulte	total
♂ Male	9	8	20
♀ Femelle	2	1	

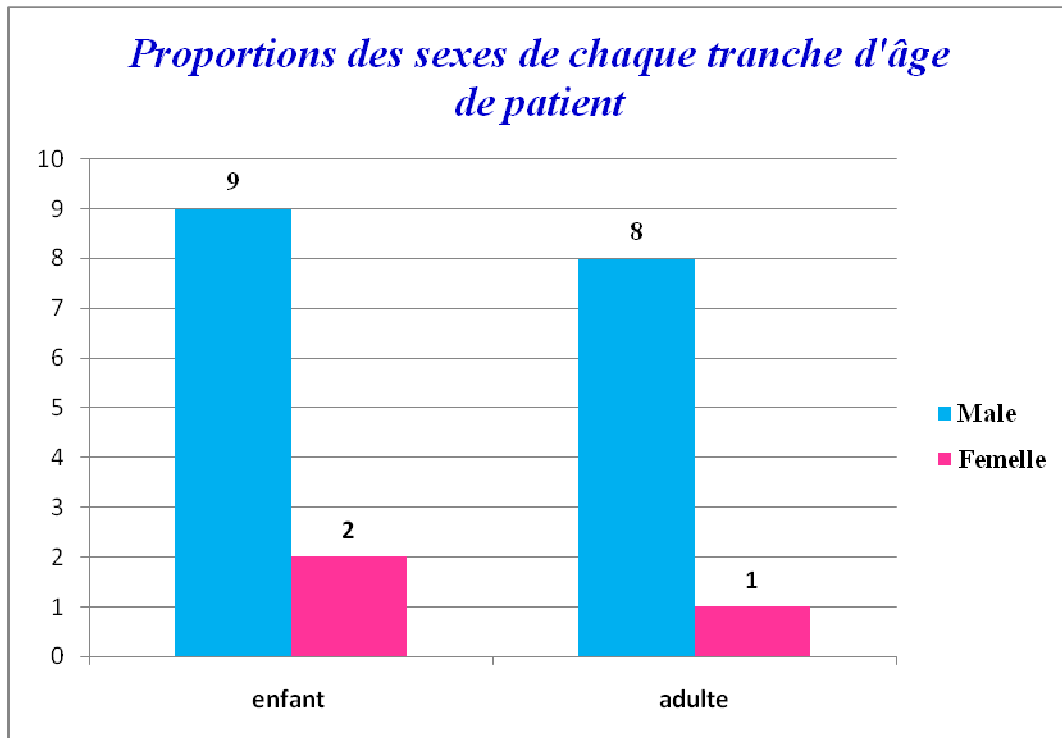


Figure 10 : schéma de proportions des tranches d'âge et le sexe des patients

Sur les 20 cas recensés, on remarque que le sexe mâle est plus nombreux que le sexe féminin, à proportion élevée d'enfants.

d) Corrélation dose / concentration :

Pour cette corrélation on utilise deux tests d'analyse statistique :

❖ Corrélation paramétrique (corrélation de Pearson) :

Définition : Pearson c'est un test paramétrique de corrélation (c'est le lien entre deux variables sans relation cause à effet).

La corrélation de Pearson mesure la force du lien entre deux variables et de voir si elle peut être expliquée uniquement par le hasard.



Toujours, avec Pearson le test bilatéral veut en général dire qu'on cherche une différence entre 2 variables sans se préoccuper de son sens.

- ✓ $H=0$: il n'y a pas de relation linéaire significative entre les 2 variables;
- ✓ $H=1$: il y a une relation entre les 2 variables

Et dans notre étude on a trouvé les résultats suivants :

Tableau n° 8 : Corrélation paramétrique dose/concentration

		Posologie (mg/jr)	[Ac. Valproïque] (mg/l)
Posologie (mg/jr)	Corrélation de Pearson	1	0,336
	Sig. (bilatérale)		0,261
	N	13	13
[Ac. Valproïque] (mg/l)	Corrélation de Pearson	0,336	1
	Sig. (bilatérale)	0,261	
	N	13	13

Le coefficient de corrélation paramétrique (corrélation Pearson) est un peu plus élevé 0,33 (par rapport au $H=0$), mais Il n'est pas significatif.

❖ **Corrélation non paramétrique (corrélation de Rho Spearman) :**

Définition : le test du Rho Spearman c'est l'équivalent non paramétrique de la corrélation de Pearson.

On a trouvé les résultats suivants :



Tableau n° 9 : Corrélation non paramétrique dose/concentration

		Posologie (mg/jr)	[Ac. Valproïque] (mg/l)
Posologie (mg/jr)	Corrélation de Pearson Sig. (bilatérale) N	1,000 13	0,486 0,096 13
[Ac. Valproïque] (mg/l)	Corrélation de Pearson Sig. (bilatérale) N	0,481 0,096 13	1,000 13

Le coefficient de corrélation non paramétrique (Rho de Spearman) est un peu plus élevé (0.48) par rapport au coefficient de corrélation paramétrique.

Il n'est pas significatif non plus mais le p (0.09) est plus proche du seuil de 0.05.

❖ **Discussion :**

D'après la corrélation paramétrique et non paramétrique, on remarque qu'il n'y a pas de corrélation entre la posologie (dose) et la concentration de l'acide valproïque dans le sang du malade.

Ce résultat semble s'expliquer par :

➤ **La variabilité intra-individuelle :**

Il existe une grande variabilité en pharmacocinétique :

- ✓ **Absorption** : 90-100% de la dose ingérée de l'acide valproïque est absorbée par le tube digestif,
- ✓ **Distribution** : l'acide valproïque est rapidement distribué dans les tissus irrigués : foie, rein, placenta.
- ✓ **Métabolisation** : le métabolisme est à 90% hépatique, notamment en composés actifs^{19, 20}
- ✓ **Élimination** : elle est essentiellement rénale (80%) sous forme inchangée,



➤ **La variabilité interindividuelle :**

La même dose de l'acide valproïque ne produit pas la même concentration et parfois ne produit pas la même nature des effets chez tous les patients traités, à cause de :

- ✓ Pharmacogénétique : conséquences des variations cinétiques et dynamiques héréditaires en termes d'efficacité et toxicité
- ✓ Sexe : la physiologie de l'homme est différente de celle de la femme
- ✓ Poids
- ✓ Métabolisation
- ✓ Age : défaillance des organes pour le sujet âgé

2) **exemple d'intérêt du suivi thérapeutique pharmacologique :**

a) **Cas du suivi thérapeutique :**

Le patient ZAK. Y. âgé de 18 mois hospitalisé pour trouble de conscience sous dépakine[®] (70mg/8H = 210mg/jr).

Tableau n° 10 : Cas du suivi thérapeutique d'un patient

Date du prélèvement	11/03/2011	17/03/2011
La concentration de l'acide valproïque	63,5 mg/l	89 mg/l
Zone thérapeutique	50-100 mg/l	



Dans ce cas, on a fait le suivi thérapeutique de la concentration de l'acide valproïque dans le sang.

Et on remarque que les deux concentrations d'acide valproïque respectent les normes (zone thérapeutique 50 – 100mg /l).

b) Cas d'adaptation posologique :

Le patient Fet. Med. âgé de 17 ans, hospitalisé pour une atteinte neurologique sous dépakine[®]

Tableau n° 11a : Cas d'adaptation posologique pour un patient

Dose administrée	Concentration d'acide valproïque	commentaire
250 mg/2*jr = (500mg/jr)	39,5 mg/l	Taux inférieur à la norme

Dans ce cas, on remarque que la concentration de l'acide valproïque est très inférieure à la norme. Et toujours le patient souffre des crises.

➤ **donc il faut augmenter la dose du médicament**

Tableau n° 11b : Cas d'adaptation posologique pour un patient

Dose administrée	Concentration d'acide valproïque	commentaire
500 mg/2*jr = (1000mg/jr)	60 mg/l	Taux normal



Après augmentation de la dose du médicament, on a constaté que la concentration de l'acide valproïque est conforme à la norme. La fréquence des crises a diminué.

➤ **donc adaptation de la nouvelle posologie.**

Remarque :

D'après ces 2 cas, on peut conclure que la surveillance reste individuelle.



Conclusion

Les médicaments antiépileptiques sont parfois administrés pour faire céder une crise convulsive, mais le plus souvent ils sont prescrits pour prévenir la récurrence des crises.

Le maniement de ces médicaments dépend avant tout de la réponse clinique et de la tolérance. Il repose aussi sur une bonne connaissance des limites de la mesure de la concentration plasmatique des antiépileptiques.

Le suivi thérapeutique vise à déterminer le meilleur régime thérapeutique possible chez un patient à l'aide de :

- ❖ dosage de concentrations sanguines
- ❖ interprétation de résultats en fonction des données cliniques et biologiques
- ❖ proposition d'adaptation posologique par plusieurs méthodes selon les propriétés pharmacocinétiques du malade.

Par ailleurs ce stage dans lequel j'ai évolué était particulièrement intéressant, il m'a permis d'acquérir beaucoup de connaissances pratiques nécessaires pour mon travail futur, et il m'a permis également d'améliorer mon sens de responsabilité, puisqu'il m'a poussée à utiliser d'une part mes compétences déjà acquises, et d'autre part d'épanouir de nouvelles.



Liste des illustrations

☞ Liste des figures :

Figure 1 : schéma de la structure chimique de l'acide valproïque

Figure 2 : schéma du principe de la méthode EMIT

Figure 3a: la méthode FPIA mécanisme et mesure (peu de substance à doser)

Figure 3b : la méthode FPIA mécanisme et mesure (beaucoup de substance à doser)

Figure 4 : schéma du processus général d'analyse

Figure 5 : schéma de système photométrique

Figure 6 : schéma de répartition des antiépileptiques dosés

Figure 7 : schéma de proportions de sexe sous antiépileptiques

Figure 8 : schéma de proportions des différents sexes des patients

Figure 9 : schéma de proportions des tranches d'âge des patients

Figure 10 : schéma de proportions des tranches d'âge et le sexe des patients

☞ Liste des tableaux :

Tableau n°1 : propriétés physicochimiques d'acide valproïque

Tableau n° 2 : Résultats de dosage des concentrations plasmatiques

Tableau n° 3 : répartition des antiépileptiques dosés

Tableau n° 4 : répartition de sexe sous antiépileptique

Tableau n° 5 : répartition de patient selon le sexe



Tableau n° 6 : répartition de patient selon l'âge

Tableau n° 7 : répartition de patient selon l'âge et le sexe

Tableau n° 8 : Corrélation paramétrique dose/concentration

Tableau n° 9 : Corrélation non paramétrique dose/concentration

Tableau n° 10 : Cas du suivi thérapeutique d'un patient

Tableau n° 11a /11b : Cas d'adaptation posologique pour un patient

☞ Liste des photos :

Photo n°1 : Centre hospitalier Hassan II Fès

Photo n°2 : laboratoire central du CHU-Fès

Photo n°3 : l'appareil Olympus (automate)

Photo n° 4 : les portoirs placés dans le système

Photo n°5 : les seringues de distribution des réactifs

Photo n°6: la seringue de distribution de l'échantillon



Référence :

1. **Juan Ochoa G. MD Willise Riche Laboratoire EEG / Unité de surveillance épilepsie, Département de neurologie, Institut des Neurosciences, Université de Floride à Jacksonville**
2. **Rang HP, Dale mm, Ritter JM. Antiepileptic drugs and centrally acting muscle relaxants. In: pharmacology. Edinbourg: Churchill Livingstone, 1999.p566-78**
3. **ABREGE connaissance et pratique pharmacologie M. Moulin/A.coquerel Masson 2eme édition p: 643, 644**
4. **Epilepsie de l'enfant choix des antiépileptiques et surveillance : médecine thérapeutique /pédiatrie. Vol 9 Num 5 313-24 sept-dec 2006**
5. **pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. Michell. SChorderet et collaborateurs p 436, 437**
6. **Thomas P, Arzimanoglou A. Les Epilepsies. Paris : Abrégés Masson, 2004.**
7. **Fisher A, Patsalos P. Pharmacology of antiepileptic drugs. In : Wallace S, Farrell K, eds. Epilepsy in children. London: Arnold Publisher, 2004 : 358-83.**
8. **Holmes GL. The interface of preclinical evaluation with clinical testing of antiepileptic drugs: role of pharmacogenomics and pharmacogenetics. Epilepsy Res 2002 ; 50 : 41-54**
9. **Moulin M. pharmacologie edition Masson 1998.**
10. **Vidal 1998 Dépakine® - Dépakine® chrono édition du Vidal, 1998 (74^e édition).**



11. Stephen LJ, Sills GJ, Brodie MJ. Topiramate in refractory epilepsy : A prospective observational study. *Epilepsia* 2000;41:977-80.
12. Aldenkamp AP, Baker G, Mulder OG, et al. A multicenter, randomized clinical study to evaluate the effect on cognitive function of topiramate compared with valproate as add-on therapy to carbamazepine in patients with partial-onset seizures. *Epilepsia* 2000;41:1167-78.
13. ANDANSON M., BUREAU C., DERHAROUTUNIAN C., DEVYS C., SANTOLARIA N. suivi thérapeutique des dosages sanguins des antiépileptiques, des digitaliques et de la théophylline : modalités pratiques et interprétation des résultats. *Lyon pharmaceutique* 1997, 48, 29-41
14. BURKE J.T., THENOT J.P. determination of antiepileptic drugs. *Journal of chromatography*, 1985, 340, 199-241.
15. HENDERSON D.R, FREDMAN S.B HARRIS J.D MANNIG W;B ZOCCOLI M.A CEDIA, a new homogenous immunoassay system. *Clin. Chem* 32, 1637-1641.
16. MC GOWAN M. BANERJI A. BAER T. CORCORAN M. DAVIDSON C. KAUTAINEN T. OSIKOWICZ G. NAGERSHETH C. development of therapeutic drug monitoring assays for the abbot axsym registered immunoassay analyser. *Klin.*
17. O'CONNELL M.T. RATNARA J.N. ELYAS A.A. DOHENY M.H. DARSOT S. PATASALOS P.N. A comparison of the OPUS and TDX analysers for antiepileptic drug monitoring. *Ther. Drug Monit*



-
18. Henderson DR, Friedman SB, Harris JD, Manning WB Zoccoli MA. CEDIA, a New Homogeneous Immunoassay System. *Clin. Chem* 1986,32: 1637-1641.

 19. Baillie A, Sheffels PR. Chemistry and biotransformation. In: Levy RH Mattson RH, Meldrum BS, Eds. *Antiepileptic drugs "valproic acid"* 4th Ed. New York: Raven Press 1995. p 589-604

 20. Eadie MJ. formation of active metabolites of anticonvulsant drugs. A review of their pharmacokinetic and therapeutic significance. *Clin pharmacokinet* 1991, 21, 27, 41

 21. CRAT Centre de référence sur les agents tératogènes Etat des connaissances sur l'acide valproïque avril 2011



Mémoire de fin d'études pour l'obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

Nom et prénom: Siham Belaoui

Année Universitaire : 2010/2011

Titre: Suivi Thérapeutique Pharmacologique des antiépileptiques « cas d'acide valproïque »

Résumé

L'épilepsie est une pathologie chronique, nécessite un traitement prolongé astreignant d'efficacité difficile.

Le suivi thérapeutique pharmacologique consiste à doser les concentrations sanguines des antiépileptiques et à les interpréter en fonction des données pour ajuster la dose administrée à chaque patient.

Il n'existe pas une corrélation entre la posologie (dose) et la concentration dosée de l'acide valproïque dans le sang du malade.

Ce résultat semble s'expliquer par :

- ❖ La variabilité intra-individuelle
- ❖ La variabilité interindividuelle

Par conséquent, le suivi thérapeutique pharmacologique reste individuel.

Mots clés:

Epilepsie / médicaments antiépileptiques / Suivi thérapeutique pharmacologique / acide valproïque / adaptation posologique / méthodes de dosage des antiépileptiques / corrélation dose concentration.