



PROJET DE FIN D'ETUDES

LICENCE EN SCIENCES ET TECHNIQUES
BIOLOGIE & SANTE

Soutenu le : 17/06/2010

Par :

Mlle ELHAMDAOUI OUMAIMA

Dosage du paracétamol par spectrophotométrie en cas d'intoxication

Encadré par :

Pr. BENCHEIKH RACHID
Pr. ACHOUR SANAE

Membres du jury:

Président	Pr. BENCHEIKH RACHID
Encadrant	Pr. ACHOUR SANAE
Examineur	Pr. BENCHEMSI
Examineur	Pr. ELATTARI

اعوذ بالله من الشيطان الرجيم

اعوذ بالله من الشيطان الرجيم
بسم الله الرحمن الرحيم
بسم الله الرحمن الرحيم

سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا
إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

صدق الله العظيم
صدق الله العظيم

سورة البقرة الآية: 31

Dédicaces

A **MES chers parents**

✚ **Mr Elhamdaoui Omar**
✚ **Mme Berrada Amina**

Toutes les dédicaces du monde ne sauraient exprimer mon profond amour, ma vive gratitude et mon intime attachement à vous, en témoignage de ma reconnaissance pour votre inéluctable patience, votre sacrifice et votre soutien au cours de mes longues années d'études, je vous dédie ce travail.

A **Mes familles**

LA FAMILLE ELHAMDAOUI
LA FAMILLE BERRADA

Votre soutien ne m'a jamais manqué
Veuillez trouver dans ce travail, le témoignage de mon profond respect

A **Mes grands parents**

Votre bénédiction, vos prières m'ont tellement protégée.
Vous trouverez dans ce travail l'expression de mon amour et de ma reconnaissance.

A **A toutes mes fidèles Amies**

Sara, meriem, Amal, Sanae, Soukaina, Nouha, Fadoua, Rania, Maha,
Nous avons vécu ensemble des moments marqués de souvenirs, que vous puissiez trouver ici
l'expression de mon amitié.
Avec mes souhaits de bonheur et de réussite.

REMERCIEMENTS

Mr R. BENCHEIKH :

Je vous remercie, Monsieur, pour l'attention particulière dont vous avez fait preuve à mon égard. Grâce à vos enseignements, votre dévouement, vos conseils et surtout à votre disponibilité, j'ai pu mener ce travail à bien. Merci.

Mme S. ACHOUR :

Je vous remercie, Madame, de m'avoir accepté dans votre laboratoire. Je vous remercie aussi pour le temps précieux que vous m'avez consacré, depuis le moment où nous évoquions ce projet de fin d'études, jusqu'à sa finalisation. Le travail, sous votre encadrement, était plus qu'enrichissant, un plaisir. Merci.

Mr A. ELATARI :

Je vous remercie, Monsieur, pour l'aide précieuse que vous m'avez apportée dans la réalisation de ce travail.

Veillez accepter l'expression de mes sentiments les plus respectueux et ma profonde reconnaissance. Merci beaucoup.

Mme EL AMARTI :

Je vous remercie madame, en votre qualité de responsable des services du laboratoire du CHU de Fès, de m'avoir accueilli au sein de votre équipe.

Mme Benshensi:

Je vous remercie madame, d'avoir voulu prêter votre aimable attention à mon travail en acceptant d'être parmi mon honorable membre du jury

Veillez trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Mes remerciements vont aussi à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à l'élaboration de ce travail.

Sommaire

Introduction

PRESENTATION DU LIEU DU STAGE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Le paracétamol

1. Définition du paracétamol
2. Structure chimique du paracétamol
3. Propriété physico-chimique
4. Formes galéniques
5. Indications
6. Mécanisme d'action
7. Pharmacocinétique

II. Elimination et intoxication

1. Doses toxiques
2. Diagnostic de l'intoxication
 - 2-1. L'anamnèse
 - 2-2. Symptomatologie clinique
 - 2-3. Examen paraclinique
 - 2-4. Autres analyses biologiques
3. Traitement
4. Perturbation de certains examens biologiques

III. Méthodes d'analyses utilisées pour la recherche et le dosage du paracétamol

MATERIEL ET METHODES

1. Critère d'inclusion
2. Fiche patient
3. Protocole du dosage du paracétamol
 - 3-1. Matériels utilisés
 - 3-2. Méthodologie

ESULTATS ET DISCUSSION

CONCLUSION

REFERENCE

Liste des abréviations

CHU	: Centre hospitalier universitaire
APM	: Centre Anti Poison Maroc
CYP P450	: Cytochrome P450
COX	: Cycloxygénase
CAPQ	: Centre Anti-poison du Québec
GSH	: Glutathion réduit
HPLC	: High Pressure Liquid Chromatography Chromatographie liquide à haute pression
NAC	: N'acétyl-cystéine
NAPQ	: N-acétyl p-benzoquinone imine
OMS	: Organisation mondiale de la santé
PGHS	: Prostaglandine H2 Synthase
POX	: Peroxydase
SCE	: Service
SGOT	: Sérum Glutamopyruvate transférase
SGPT	: Sérum Glutamooxaloacétate transférase
TCA	: Acide trichloracétique

INTRODUCTION

Les intoxications aiguës accidentelles ou volontaires représentent une charge de travail importante dans les services de réanimations [1].

En 2004, l'organisation Mondiale de la santé (OMS) a enregistré 345814 cas de décès par intoxication dans le monde soit 5,4 décès pour 100 000 habitants. Aux USA, l'association Américaine des centres Anti Poison a collecté 2403539 cas d'intoxications en 2006 soit 8,0 pour 1000 Habitants, 1229 cas de décès y étaient liés, soit un taux de létalité de 0,05% [2].

De 1980 à 2007, le Centre Anti Poison et de Pharmacovigilance du Maroc (CPAM) a collecté au total 251 674 cas d'intoxication dont 2089 cas ont été enregistrés dans la région Fès- Boulmane.

Les médicaments représentent la 2^{ème} cause d'intoxications avec 22% au Maroc : Souvent le paracétamol est toujours en cause.

La fréquence de l'intoxication par le paracétamol enregistrée par le CAPM est passé de 0% en 1991 à 42 cas en 2007(2,9%) et dans le Québec cette fréquence est passée de 4,4% en 1984 à 10,1% des cas en 1992.

En 2001, le centre anti poison du Québec a collecté 2260 cas d'intoxications par le paracétamol ce qui représente 10,2% de l'ensemble des intoxications chez l'enfant de moins de 15ans.

En cas de surdosage, le paracétamol provoque une intoxication aiguë parfois mortelle. Lors des intoxications au paracétamol, le dosage de la paracétamolémie constitue un excellent critère pour évaluer la gravité de l'intoxication et permet aussi de préciser la conduite à tenir et de guider la thérapeutique, en particulier celle à base d'antidote qui est le N acétylcysteine (NAC). Ce dosage doit se faire en urgence afin de prévenir autant que possible l'hépatotoxicité, caractéristique majeure de l'intoxication aiguë au paracétamol.

BUT DE STAGE

Mon stage de fin d'études réalisé, au service de toxicologie, du CHU Hassan II de Fès, sous la direction du Pr.S.ACHOUR, avait comme motivation, et comme but d'utiliser une technique de dosage spectrophotométrique afin de prévenir l'hépatotoxicité caractéristique majeure de l'intoxication par le paracétamol. Ce mémoire permet aussi de mettre l'accent sur la gravité de l'intoxication qui peut être fatale voir mortelle. Pour cela nous avons recueillis au niveau du Laboratoire de toxicologie du Centre Hospitalier Universitaire de Fès tous les cas d'intoxication quelle soit certaine ou suspectée. Et ceci sur une période d'un mois.

PRESENTATION DU LIEU DU STAGE

Mon stage a été effectué au sein du laboratoire du :

Centre Hospitalier Universitaire Hassan II Fès (CHU-Hassan II Fès)

Centre hospitalier universitaire de Fès est un établissement public inaugure le 09/2009 par sa majesté le roi Mohammed VI. Il couvre les besoins d'une population estimée à plus de 3 millions d'habitants issus des régions de Fès Boulemane, Meknès-Tafilalet et Taza-Al Hoceima-Taounat.

L'infrastructure sanitaire du CHU est dotée de technologie de pointe, de normes de sécurité technique et de bâtiments conformes au système ISO/CEI17025.

Il est géré par un directeur et dispose de services suivants :

- Secrétariat.
- Pharmacie.
- Hospitalisation.
- Maternité.
- Maintenance.
- Service général.
- Laboratoire centrale des analyses médicales.
- Radiologie.
- Sécurité.

L'unité de biochimie, pharmacologie et toxicologie

L'unité de biochimie, pharmacologie et toxicologie fait partie du laboratoire centrale des analyses médicales. Elle vise à fournir à ses patients « services cliniques » des prestations en biochimie médicale de la plus haute qualité possible en respectant les offres que l'unité est en mesure de donner. Les résultats fournis doivent ainsi être justes, reproductibles et livrés à temps.

Le chef du service des laboratoires s'engage à mettre en place et de maintenir un système qualité qui répond aux prescriptions de la norme ISO/CEI17025. Tout le personnel doit se conformer aux prescriptions du manuel des procédures du système qualité.

Le laboratoire

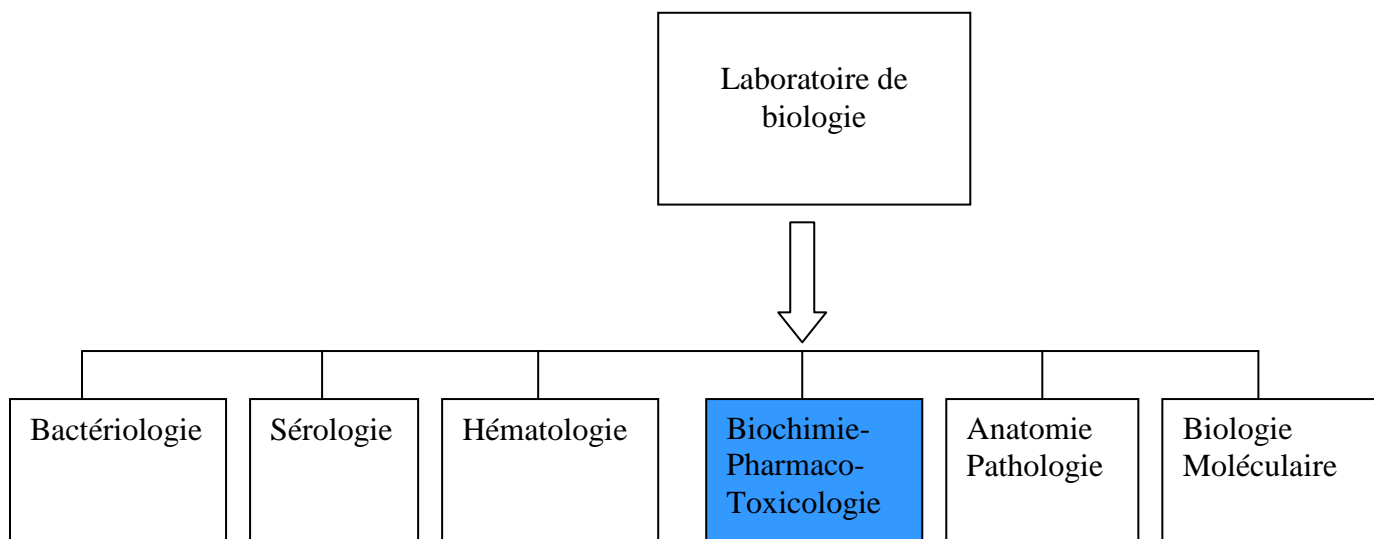


Figure 1 : Le laboratoire

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Le paracétamol

1. Définition du paracétamol

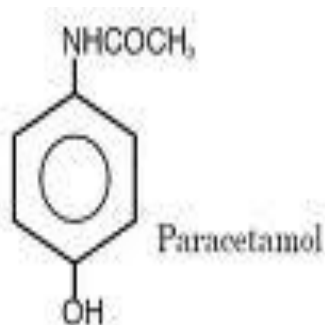
Le paracétamol est un médicament antipyrétique et analgésique utilisé principalement pour réduire la fièvre et soulager les douleurs mineures associées au rhume, grippe, maux de dents, arthrite, crampes menstruelles, etc. Le paracétamol est le plus couramment utilisé par des gens qui sont sensibles ou allergiques à l'aspirine. Bien, qu'il n'est pas efficace contre l'inflammation, par rapport à l'aspirine ou l'ibuprofène, il est bien toléré par la plupart des gens, y compris les enfants et a peu d'effets secondaires [3].

De nombreux médicaments sont à base de paracétamol seul (Doliprane, Parasol, Parantal, etc.) ou associé à d'autres substances (Rinofébral, Di-antalvic, ...).

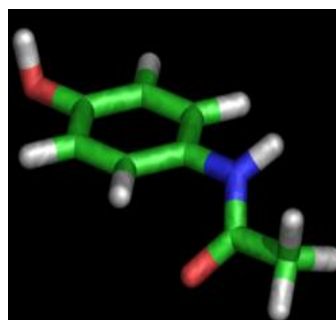
Le paracétamol possède d'autres dénomination commune internationale: Acétaminophène, Para-acétaminophénol, Hydroxy-4'-acétanilide.

2. Structure chimique du paracétamol

La molécule est constituée d'un cycle benzénique, substitué par un groupement hydroxyle et par un groupement amide en position para.



Structure du paracétamol



Représentation 3D de la molécule

Paracétamol

Figure 2 : Structure du paracétamol

3. Propriété physico-chimique

La formule brute du paracétamol est la suivante: $C_8H_9NO_2$, son PKa est de 9,5 et son poids moléculaire est de 151,2 Da. Sa température de fusion est $>500^{\circ}C$. Il est soluble dans l'acétone, l'éthanol, le méthanol, le dichlorure d'éthylène, l'acétate d'éthyle ; il l'est d'autant plus dans l'eau chaude.

Peu soluble dans le chloroforme, l'éther. Presque insoluble dans l'éther de pétrole, le pentane, le benzène. Sa masse volumique est de 1,293 à $21^{\circ}C$.

4. Formes galéniques

Le paracétamol entre dans la composition d'une soixantaine de spécialités pharmaceutiques et peut se présenter sous différentes formes ou conditionnements. Le paracétamol seul est vendu sous de nombreuses formes galéniques comme des comprimés (Doliprane, Efferalgan, Tylenol), des comprimés effervescents (Claradol, Doliprane, Panadol, Efferalgan), des gélules (Dafalgan), du sirop (Oralgan), des suppositoires (Dafalgan, Doliprane, DolKo), ou des lyophilisats (Paralyoc). Il est aussi disponible sous forme intraveineuse (Perfalgan).



Figure 3 : Formes galéniques

5. Indications

Le paracétamol est utilisé pour :

- Le traitement symptomatique des douleurs chroniques, d'intensité légère à modérée. Il s'agit d'un antalgique de palier 1 selon la classification de l'OMS. Il peut être utilisé seul ou en association avec d'autres antalgiques (codéine, dextropropoxyphène, tramadol), il rentre alors dans la classification des antalgiques de palier 2 indiqués dans les douleurs d'intensité modérée à intense ou ne répondant pas à l'utilisation d'antalgiques périphériques seuls.
- Le traitement symptomatique de la fièvre, en particulier chez l'enfant chez qui il constitue l'anti-pyrétique de première intention.

6. Mécanisme d'action

Le paracétamol agit principalement au niveau du système nerveux central, en inhibant la production de prostaglandines, impliquées dans les processus de la douleur et de la fièvre, par le biais d'une action inhibitrice sur l'enzyme prostaglandine H2 SYNTHASE (PGHS), qui comporte notamment un cycle actif (cycle oxygénase) (ou COX), cible de la majorité des AINS, et un site (peroxydase) (ou POX), sur lequel agirait le paracétamol.

Le paracétamol n'aurait pas d'action directe sur le COX-1 et le COX-2, les deux formes de COX sur lesquelles agissent les AINS comme, l'aspirine ou l'ibuprofène. On soupçonne l'existence d'une nouvelle iso enzyme, le COX-3, sur laquelle agirait spécifiquement le paracétamol et qui expliquerait pourquoi le paracétamol réduit la fièvre et la douleur tout en étant dénuée d'activité anti-inflammatoire et antiplaquettaire.

D'autres mécanismes d'actions ont été évoqués pour expliquer l'activité analgésique et antipyrétique du paracétamol, dont un mécanisme d'action sérotoninergique centrale. En effet, le paracétamol potentialiserait l'effet des neurones sérotoninergiques descendants de la moelle épinière exerçant un contrôle inhibiteur sur les voies de la douleur.

Par ailleurs, le paracétamol pourrait agir en limitant la libération de Béta-endorphines [4].

7. Pharmacocinétique

Absorption

L'absorption du paracétamol par voie orale est complète et rapide : le maximum de concentration plasmatique est atteint aux alentours de 15 minutes (comprimé et poudre) après ingestion.

Distribution

Le paracétamol se distribue rapidement dans tous les tissus, les concentrations sont comparables dans le sang, la salive, et le plasma. La liaison aux protéines plasmatiques est faible. La fourchette des concentrations plasmatiques thérapeutiques se situerait entre 10 et 20 mg/l. Chez l'enfant, la dose quotidienne recommandée est de **60 mg/kg/jour**, à répartir en 4 ou 6 prises (environ 15 mg/kg toutes les 6 heures ou 10 mg/kg toutes les 4 heures). La posologie maximale est de 80 mg/kg/jour chez l'enfant de moins de 38 kg selon les recommandations officielles en France [5]. Il n'est généralement pas nécessaire de dépasser la dose de 3 g par jour chez l'adulte.

II. Elimination et Intoxication

Le paracétamol est métabolisé essentiellement au niveau du foie. Les deux voies métaboliques majeures sont la glycuconjugaison et la sulfoconjugaison. Il existe une voie métabolique moins importante, catalysée par le cytochrome P450 (plus précisément par les iso enzymes CYP2 E1, CYP1 A2, CYP3 A4), qui aboutit à la formation d'un intermédiaire réactif toxique, la N-acétyl p-benzoquinone imine ou NAPQ fonctionnel en cas de saturation des 2 voies déjà cités. Il est rapidement éliminé par réaction avec le glutathion réduit (GSH) puis évacué dans les urines après conjugaison à la cystéine et à l'acide mercaptopurique.

L'élimination du paracétamol est essentiellement urinaire, 90% de la dose ingérée est éliminée principalement par le rein en 24h sous forme glycuconjugaison (60 à80%) et sulfoconjugaison (20 à 30%) et moins de 5% sont éliminés toujours dans les urines sous forme inchangé.

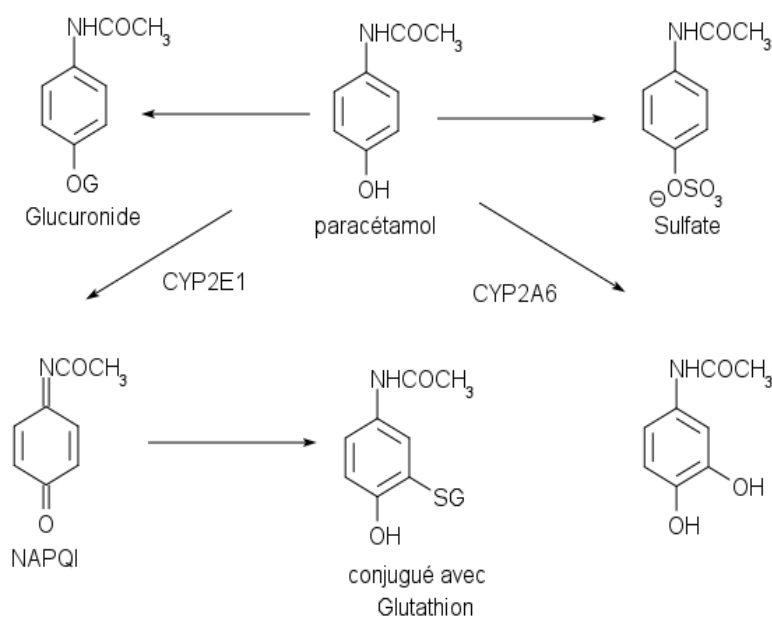


Schéma 1 : Différents voies d'élimination du paracétamol

1. Doses toxiques

A doses thérapeutiques, les métabolites sont des glucuro et des sulfoconjugués non toxiques ; une faible fraction est transformée en un métabolite électrophile fortement réactif (N acétyl-p-benzoquinone-imine, NAPQ) qui est inactivé par le glutathion réduit (GSH). Lors de surdosage (intoxication), le système protecteur du glutathion est dépassé, ce métabolite électrophile est alors produit en quantité importante et est responsable des lésions hépatocytaires [6]. Ce métabolisme activateur du paracétamol dépend du cytochrome P450.

Plusieurs mécanismes, habituellement associés, expliquent la toxicité hépatique des métabolites réactifs du paracétamol :

- 1) Fixation covalente des métabolites réactifs aux protéines hépatiques qu'ils dénaturent
- 2) Dégradation des lipides membranaires entraînant des altérations de la membrane des hépatocytes.
- 3) Perturbation de l'hémostasie calcique responsable d'activations d'enzymes cytolytiques.

L'ensemble de ces altérations aboutit à la nécrose hépatique centrolobulaire.

Expérimentalement, chez le rat, le métabolisme rénal du paracétamol aboutit à la formation des mêmes radicaux réactifs permettant d'expliquer sa néphrotoxicité. Cependant, l'atteinte rénale peut être d'origine fonctionnelle (hypovolémie), iatrogène (administration de médicaments néphrotoxiques) ou rentrer dans le cadre d'un syndrome hépatorénal (hépatite fulminante).

Enfant	100 mg/kg
Adolescent	125-150 mg/kg
Adulte	5-15 g <125mg/kg pas d'hépatotoxicité 250mg/kg (risque hépatique sévère : 50%) 300mg/kg (risque hépatique sévère : 100%)

Tableau 1 des doses toxiques [7]

2. Diagnostic de l'intoxication

Le diagnostic de l'intoxication par le paracétamol est habituellement suspecté à partir de l'anamnèse et confirmé par le dosage de la concentration sérique de ce médicament.

2.1 L'Anamnèse

L'interrogatoire du patient ou de son entourage doit mettre en évidence :

- Age, sexe, poids et antécédents.
- Heure d'intoxication ;
- Nature des premiers gestes ;
- Quantité du toxique absorbé.
- Si la quantité ingérée est inconnue, il faut toujours considérer comme ingérée la dose maximum absorbable
- Circonstance de l'intoxication : accident domestique, erreur thérapeutique, tentative suicidaire...

2.2 Symptomatologie clinique

Troubles digestifs

Les premiers signes de l'intoxication par le paracétamol ne sont ni spécifiques ni prédictifs d'hépatotoxicité, de 2 à 12 heures après l'ingestion apparaissent des nausées, des vomissements, des douleurs abdominales. L'ictère est le plus souvent modéré et apparaît vers le troisième jour.

L'atteinte hépatique

Vers le deuxième jour peut apparaître une cytolyse hépatique (dosage des transaminases) avec des douleurs localisées à l'hypochondre droit. L'élévation enzymatique est alors très rapide, vers le 3^{ème} ou 4^{ème} jour. L'atteinte hépatique sévère est définie par un taux sérique d'alanine aminotransférase et d'aspartate aminotransférase supérieure à 1000 UI/l dans les formes les plus graves, et pour une faible proportion de cas, une hépatite fulminante se développe en 3 à 6 jours, marquée par un ictère, des troubles de la crase sanguine avec coagulation intra vasculaire disséminée, une hypoglycémie, une insuffisance rénale, une encéphalopathie et une hypertension intracrânienne. Le pronostic est alors réservé, la mortalité étant de 50% [8].

L'atteinte rénale

Elle est rapportée dans moins de 2 % des cas d'intoxication par le paracétamol et chez près de 50% des patients ayant une insuffisance hépatique. L'atteinte rénale peut être isolée mais elle est le plus souvent associée à une atteinte hépatique, elle nécessite rarement une épuration extra rénale et se corrige en une à quatre semaines.

Les autres symptômes

D'autres atteintes non spécifiques ont été rapportées : pancréatique aiguë, atteinte cardiaque avec trouble de la repolarisation. En l'absence de traitement spécifique, une évolution mortelle est notée dans 1% de cas environ. Dans les cas favorables, la régénération hépatique est totale en quelques semaines [9-10].

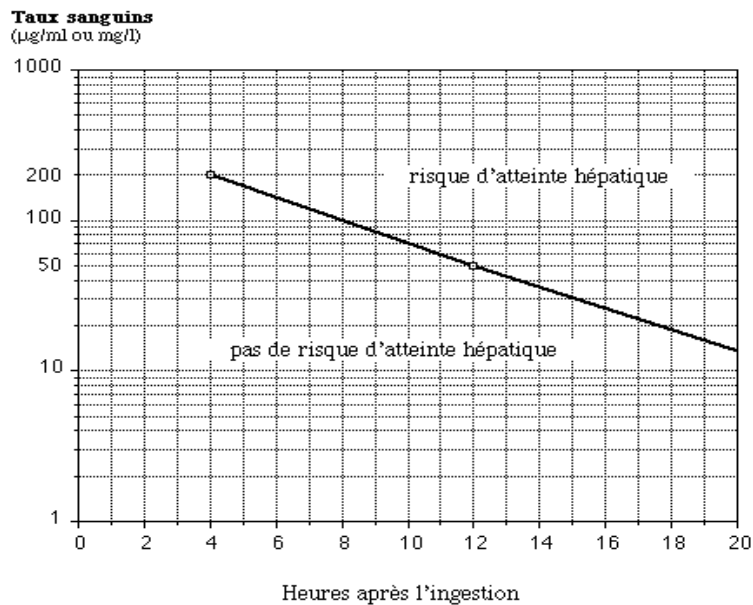
2.3 Examen paraclinique

2.3.1 Dosage du paracétamol : Paracétamolémie

C'est le meilleur indicateur de la gravité potentielle de l'intoxication, si elle est réalisée entre 4 et 16 heures après l'ingestion médicamenteuse. Le risque d'apparition d'une atteinte hépatique est évalué en fonction de la paracétamolémie et du délai écoulé par rapport à l'ingestion. Le nomogramme de Prescott a été validé dans le cas d'une ingestion aiguë unique de paracétamol, à un moment précis connu, chez un sujet en bonne santé. Il est nécessaire de rappeler qu'il n'a pas été validé dans d'autres circonstances. L'interprétation de la paracétamolémie et de la dose ingérée doit par conséquent tenir compte des différentes situations qui diminuent le seuil de toxicité du paracétamol [11].

2.3.1.1) Utilisation de nomogramme de Prescott

Non interprétable avant la 4^{ème} heure et en cas d'absorption de formes retard.



Courbe 1 : de Prescott [12].

2.3.1.2) Interprétation du nomogramme de Prescott

Pas de risque hépatique	Risque hépatique
4 ^{ème} heure < 150 mg/l	≥ 150mg/l
15 ^{ème} heure < 25 mg/l	≥ 30mg/l

2.3.1.3) Situation à prendre en compte dans l'interprétation du seuil de toxicité du paracétamol

- Consommation chronique et excessive d'alcool

Elle abaisse le seuil d'apparition des lésions hépatiques et rénales dues au paracétamol et une dose thérapeutique peut être toxique. En effet, le cytochrome P450 (CYP 2 E1 et CYP 1A2) est induit et il en résulte une synthèse plus importante de métabolite toxique, le NAPQ. A ceci s'ajoute une baisse fréquente des réserves en glutathion chez ces patients [13-14].

- Anorexie et dénutrition

Il y'a une réduction de la réserve en glutathion et par conséquent une diminution du seuil de toxicité du paracétamol.

- Phénobarbital, phénytoïne, carbamazépine, isoniazide ou rifampicine

Ils induisent le cytochrome P450 et augmentent la synthèse de métabolites réactifs.

- Triméthoprime-sulfaméthoxazole et zidovudine

Ils augmentent la toxicité hépatique du paracétamol en réalisant une compétition sur la voie de la glucuroconjugaison ce qui majore le métabolisme par le cytochrome P450.

- Prise répétée de paracétamol

Elle abaisserait également le seuil de la toxicité hépatique et rénal.

2-4 Autres analyses biologiques

Le dosage des transaminases constitue un volet très important dans la mesure où il constitue un élément de pronostic de l'hépatotoxicité. En effet, la toxicité est peu probable si les SGOT et/ou SGPT ne s'élèvent pas dans les 48 premières heures post ingestion. Il faut aussi surveiller :

- La bilirubine (qui s'élève surtout sous sa forme non conjuguée)
- Le taux de prothrombine : C'est un excellent marqueur de la fonction hépatique
- Le dosage de la créatinémie.
- Le dosage de la glycémie qui devient inférieur à la norme.
- Le dosage de l'urée [15].

3. Traitement

a. Epurateur

Les vomissements provoqués ne sont pas recommandés car ils peuvent entraver l'administration de la N-acétylcysteine.

Le charbon activé doit être envisagé en première intention si le patient est vu quelques heures après l'ingestion (moins de 6h) et si le transit est normal. La dose est de 25 à 100 g chez l'adulte et l'adolescent, 25 à 50 g chez l'enfant (de 1 à 12 ans), et 1g /kg chez l'enfant de moins d'un an. Il ne doit pas être administré si on envisage de donner l'antidote du paracétamol qui est la N-Acétylcystéine par voie orale car il a un effet adsorbant.

Le lavage gastrique peut être utile lorsqu'on est désarmé des moyens précédents et si le temps post ingestion ne dépasse pas 1h. Le malade doit être ensuite gardé sous surveillance avec détermination des taux sériques du paracétamol et des transaminases.

b. Antidotique

Le traitement antidotique est constitué par la N- Acétylcystéine. Elle pénètre dans les cellules hépatiques, y apporte les radicaux SH et compense l'insuffisance du système de glutathion (GSH).

Si l'intoxication est suspectée, ce traitement doit être démarré le plus tôt possible sans attendre les résultats de la paracétamolémie. En fonction de ces résultats, le traitement sera poursuivi ou arrêté.

L'administration peut se faire par voie orale ou veineuse. La N- Acétylcystéine doit être administrée dans les 8 heures qui suivent l'intoxication, cependant, elle reste efficace même après 24 heures [16].

Modalités d'administration

Voie orale

La dose de charge est de 140 mg/kg diluée dans 3 à 4 ml/kg d'eau ou de jus, 4 heures plus tard, on donne une dose d'entretien soit 70 mg/kg, diluée dans 2 à 3 ml/kg. Répéter la même dose toutes les 4 heures pour un total de 17 doses.

En cas de vomissement, il faut répéter la même dose 1h après.

NB : si un premier dosage montre un risque d'hépatotoxicité, il ne faut pas arrêter le

Traitement, même si un 2^{ème} bilan indique que ce risque n'existe plus.

Voie parentérale

Avant 12 h post ingestion on applique le protocole de 21 heures :

- 1^{ère} perfusion: 150 mg/kg dans 200 ml de glucosé à 5% à perfuser sur une durée de 60 min.
- 2^{ème} perfusion en 4h : 50 mg/kg dans 500ml de glucosé à 5 %
- 3^{ème} perfusion sur 16h: 100mg/kg dans 1000 ml de glucosé 5 %
- Chez l'enfant, ces volumes peuvent entraîner des risques d'hypo natrémie et de convulsions, il faut donc tenir compte du poids de l'enfant pour le volume total de glucosé ou préférer la voie orale.
- Chez les patients ayant présenté une atteinte hépatique, il faut continuer l'antidote jusqu'à son amélioration.

Effets indésirables de la N- acétylcysteine

- Erythème facial : ce qui impose le ralentissement de la perfusion.
- Réaction anaphylactoïde : nécessitant l'arrêt de la perfusion (possibilité de passage à une hémoperfusion sur charbon de bois activé si disponible).

c. Traitement de support

Le traitement de l'insuffisance hépatique et de l'insuffisance rénale ne présente pas de Particularités spécifiques liées au paracétamol.

4. Perturbation de certains examens biologiques par la prise du paracétamol.

Parmi les complications d'une intoxication au paracétamol, certains dosages biologiques sont perturbés tel que la glycémie et l'acide urique.

III. Méthodes d'analyse utilisées pour la recherche et le dosage de la paracétamolémie

L'appréciation du risque toxique, implique des techniques de dosage précises et spécifiques du paracétamol.

Le choix d'une technique de dosage dépend de sa spécificité, de sa sensibilité, de la fréquence des demandes, du matériel disponible et du personnel qui l'a mise en œuvre.

Il y a deux types des techniques utilisées pour la révélation de la présence du paracétamol dans la matrice biologique (sang) :

- Technique de recherche colorimétrique qui consiste à révéler le paracétamol par des réactions chimiques.
- Technique de dosage basée sur :
 - Les mesures chromatographiques : Consistent à séparer différentes substances en fonction de leurs propriétés physico-chimiques, et quantifier les produits séparés.
 - Les mesures Spectrophotométriques : Cette technique permet de mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique dans une solution à une longueur d'onde donnée [17].

Matériel et méthodes

1. Critère d'inclusion

Nous avons inclus dans cette étude les intoxications par le paracétamol, quel que soit l'âge du malade provenant des différentes régions de Fès Boulmane, Meknès-Tafilalet et Taza-Al Hoceima-Taounat quelle soit certaine ou suspectée.

2. Fiche patient

Chaque cas d'intoxication correspond à un appel téléphonique, reçu et enregistré sur des fiches, par un médecin spécialisé. Ces fiches contiennent un certain nombre d'éléments spécifiques, nécessaires et souvent suffisants pour une évaluation correcte de la situation et donc une prise en charge adéquate, à savoir :

- Caractéristiques du patient : age, sexe, origine, poids.
- Délai d'intoxication ou délai poste intoxication.
- Délai écoulé entre le moment de l'intoxication et l'appel au CHU, c'est un élément important à préciser car il conditionne la prise en charge.
- Date et heure du prélèvement :
- Renseignements cliniques :
- Nature des échantillons : Urines ou autre
- Voie d'administration :
- Dose supposée ingérée :
- Lieu d'intoxication :
- Traitements associés :
- Heure d'analyse

3. Protocole du dosage du paracétamol

Durant mon stage je n'ai effectué que des dosages spectrophotométriques.

3.1 Matériels utilisés :

- Pipette de 1 et 2 ml ;
- Micropipette de 500 µl;
- Tube à essai de 20 ml ;
- Centrifugeuse ;
- Vortex ;
- Spectrophotomètre UV Visible.



Figure 3 : Spectrophotomètre UV Visible Jasco V 530

3-2 Méthodologie:

Le dosage du paracétamol est effectué sur le plasma et/ou sérum des patients soupçonnés d'intoxication.

Réactifs :

1. Solution aqueuse d'acide trichloracétique (TCA)(100 g/l).
2. Acide chlorhydrique dilué (6 mol/l).
3. Solution aqueuse de nitrite de sodium (100 g/l, récemment préparée).
4. Solution aqueuse de sulfamate d'ammonium (150 g/l).
5. Solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (6 mol/l).

Gamme d'étalonnage

A partir d'une solution de Paracétamol à 1 mg/ml, on prépare une gamme étalon dans du plasma normal (blanc) à 0, 50, 100, 200 et 400 mg/l. Ces solutions sont instables même à 4°C, et doivent être préparées chaque semaine ou conservées à -20°C [18].

Le tableau suivant indique les volumes de prise pour l'obtention de chaque concentration :

Etalon (µg/ml)	0	50	100	200	400	Ech.
Sérum témoin (ml)	1	1	1	1	1	1ml d' ech
Sol. Paracétamol (µl)	-	50	100	200	400	-
H₂O (µl)	400	350	300	200	0	400
TCA (ml)	2	2	2	2	2	2

NB : Le tube marqué Ech. Contient le sérum du patient. Le sérum témoin est additionné à l'étalon.

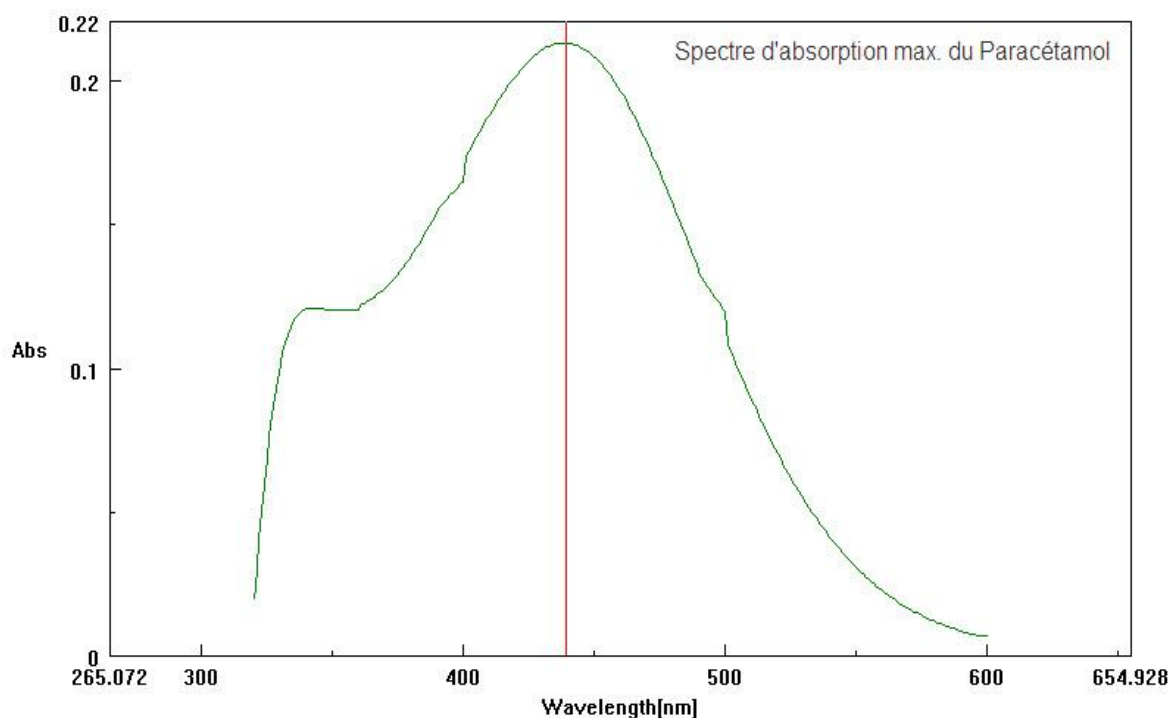
- on agite au vortex pendant 1 min.
- on centrifuge pendant 5 min à 3000 rpm.
- On met 2 ml du surnagent dans un autre tube.
- On ajoute 0.5 ml d'HCl pur et 1 ml de NaNO₂ à 20 %.
- On agite à la main et attendre 2 min.
- On ajoute 1 ml de sulfamate d'ammonium à 30 % goutte à goutte pour éliminer l'excès d'acide nitreux, et 2 ml de NaOH à 25 %.
- On agite au vortex pendant 15 sec.
- **Lire l'absorbance à 450 nm par rapport à un blanc préparé avec du plasma normal.**

On calcule la concentration de paracétamol dans l'échantillon plasmatique par extrapolation sur la courbe étalon issue des concentrations connues de paracétamol.

Résultats et Discussion

1. Spectre d'absorption du paracétamol :

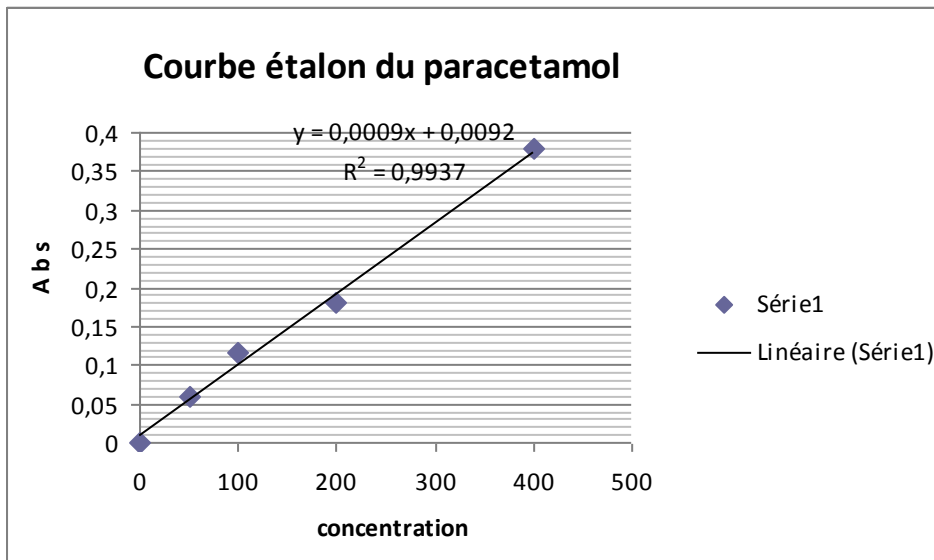
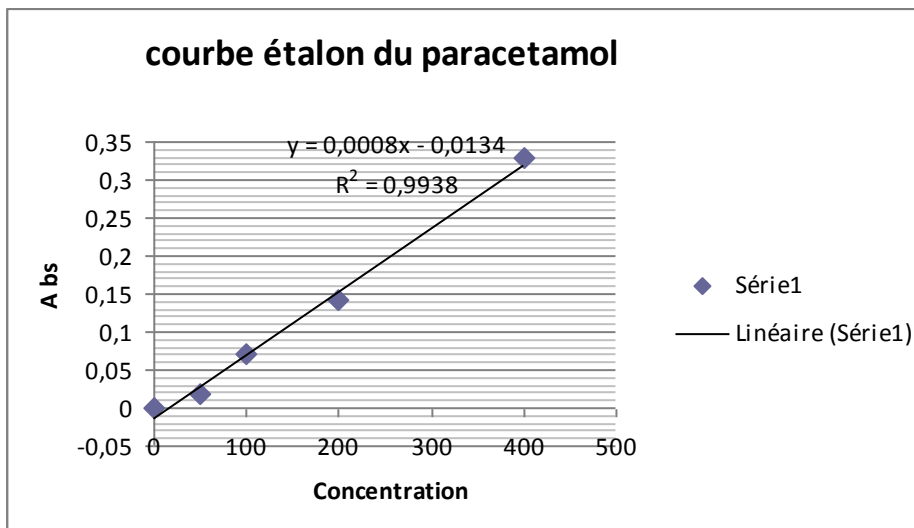
Le spectre du paracétamol a été observé entre 300 et 600 nm avec un pic d'absorption maximal autour du 450nm.



2) courbes étalons du paracétamol

On a effectué une gamme étalon du paracétamol par spectrophotométrie à 450nm avec des concentrations croissantes (0, 50, 100, 200, 400) et on a obtenu les valeurs représentées dans le tableau suivant :

[paracétamol]	DO	[paracétamol]	DO
0	0	0	0
50	0,019	50	0,06
100	0,071	100	0,117
200	0,143	200	0,18
400	0,328	400	0,38



Les deux courbes ont un coefficient de régression (R) très proche de 1, nous pouvons donc conclure que les courbes sont linéaires. Par extrapolation nous pouvons déterminer les concentrations plasmatiques du paracétamol dans nos échantillons à partir de l'une de ses deux courbes.

3. Cas cliniques:

Tous les patients adressés à l'unité de toxicologie présentent une fiche de renseignements comprenant les examens à effectuer (Voir tableau ci-dessous).

	Patient 1	Patient2	Patient3
N° d'entrée	145537	144246	Externe
Date	26/05/10	20/05/2010	20/05/2010
Sexe	Masculin	Masculin	Masculin
Age	7ans	5ans	2ans
Hôpital	CHU. Fès	CHU.Fès	CHU Fès
Service	Urgence pédiatrique	Urgence. pédiatrique	Externe
Ville	Fès	Boulmane	Fès
Nature du prélèvement	Sang	Sang	Sang
Examens demandés	Recherche toxicologique	Examen toxicologique	Paracétamolémie
Renseignements	<ul style="list-style-type: none">▪ Crise convulsive▪ Fièvre	<ul style="list-style-type: none">▪ Fièvre▪ Fatigue▪ Hépatite fulminante	<ul style="list-style-type: none">▪ Fièvre
Résultats	Paracétamolémie : 0mg/l	Paracétamolémie : 5mg/l	Paracétamolémie =370mg/l
Méthode utilisée	Spectrophotométrie	spectrophotométrie	spectrophotométrie
Date et heure du compte rendu	27/05/2010	21/05/2010	21/05/2010

Patient 1

On a reçu le 26/05/10 de l'urgence pédiatrie du CHU le sang d'un patient âgé de 7 ans qui présente des convulsions, ou l'on soupçonne une intoxication par le coquelusidal pris pour baisser la température par voie rectale.

Le dosage de la paracétamolémie montre l'absence de paracétamol, donc on ne peut expliquer les convulsions que par les terpènes qui constituent le médicament.

Patient 2

On a reçu le prélèvement d'un patient âgé de 5ans, hospitalisé pour une hépatite fulminante inexpliquée au service pédiatrie. L'interrogatoire a révélé la notion de prise de paracétamolémie (quantité indéterminée). Nous avons effectués le dosage de la paracétamolémie 16 heures après la prise du paracétamol. Le résultat retrouvé était de 5 mg/l, ce qui a écarté l'option de toxicité par le paracétamol.

Patient 3

Il s'agit d'un enfant de 2 ans, pesant 13 kg, qui a ingéré accidentellement un flacon de Doliprane® contenant 3g de paracétamol, et qui est resté asymptomatique 3h après l'ingestion. Nous avons effectué une paracétamolémie 4 heures après l'ingestion, elle était à 370 mg/l. L'interprétation selon le nomogramme de Prescott a montré qu'elle a dépassé le seuil et l'enfant peut présenter des troubles hépatiques en absence de l'administration de l'antidote le Nacétyl-cystéine (NAC).



Flacon ingéré par

l'enfant

La conduite à tenir était l'administration de NAC à la dose de 170mg/kg en dose de charge puis 70mg/kg/4h pendant 72h.

La paracétamolémie effectuée le lendemain était de 36 mg/l, le bilan hépatique était normale ce qui indiquait ainsi l'arrêt de la N-acétyl cystéine.

L'évolution de l'enfant était favorable et il a quitté l'hôpital dans les 48 heures après l'admission.

➤ L'intoxication par le paracétamol accidentelle ou volontaire constitue un grand problème de santé public et occupe une place importante dans les services d'accueil et d'urgences. Chez l'enfant cette intoxication est très fréquente vu la fréquence d'utilisation de ce médicament en pédiatrie. En fonction de l'âge, l'accumulation des métabolites hépatotoxiques, après épuisement des réserves en glutathion (facilite l'élimination des toxiques) peut aggraver l'intoxication au paracétamol. .

Lors des intoxications le dosage sanguin des toxiques est très important car il constitue un excellent critère d'évaluation de la gravité et permet de prédire le risque hépatique et d'orienter la thérapeutique. A l'unité de toxicologie, le dosage du paracétamol est effectué par spectrophotométrie afin de suspecter une éventuelle intoxication par le paracétamol. Cette méthode est pratique (large spectre d'utilisation), c'est une méthode d'urgence, facile et très sensible.

Dans le diagnostique, un résultat négatif, ne signifie pas l'absence d'intoxication. D'où la nécessité d'effectuer d'autres recherches de toxiques.

Le patient peut être intoxiqué par d'autres molécules qui ne sont pas incluses dans le screening utilisé par le laboratoire, comme c'était le cas avec le patient 1 qui était intoxiqué par le coquelusidal mais la paracétamolémie a été révélée négative. L'origine probable de l'intoxication chez ce patient 1 pourrait être les terpènes contenus dans le coquelusidal responsables souvent de convulsions.

Chez le patient 2 on a pu écarté l'origine toxique du médicament car sa paracétamolémie n'était pas en surdosage.

Pour le patient 3 qui a ingéré une dose exagérée de paracétamol, et qui a été transporté au CHU avec une augmentation de température ; grâce aux analyses toxicologiques, nous avons réussi à guérir le patient en lui est administrant l'antidote : La N-acétyl cystéine, le sauvant ainsi de complications certaines vue son bas âge.

Malgré l'importance de l'unité de toxicologie du CHU de Fès qui est une structure récente, les manques de moyens en matériels et réactifs limitent considérablement le nombre d'analyses effectuées.

Conclusion

L'analyse toxicologique d'urgence représente un complément intéressant indispensable à toute approche clinique, d'où la nécessité d'établir une collaboration étroite entre le clinicien et le laboratoire d'analyses. En effet, l'obtention rapide des résultats d'analyses toxicologiques répond bien aux besoins d'urgence grâce à sa facilité de mise en œuvre, ainsi qu'à la couverture d'un large éventail de médicaments.

Mais, pour optimiser cette approche, il est nécessaire d'élaborer une stratégie analytique définie localement avec les services cliniques concernés sur un certain nombre de points indispensables à la prise en charge de l'intoxication aiguë. Ainsi, il est important :

- ✓ D'obtenir un consensus sur une liste minimale d'analyses toxicologiques à effectuer en urgence.
- ✓ D'identifier la procédure retenue selon l'heure d'arrivée du prélèvement.
- ✓ De bien définir le délai de réponse souhaité et d'afficher clairement la durée d'analyse nécessaire à sa réalisation.

Tous ces éléments sont indispensables à une bonne coordination clinico-analytique, car ils prennent en compte les spécificités locales telles que l'équipement existant au laboratoire, la formation et disponibilité du personnel et le cas échéant la collaboration avec un centre spécialisé de proximité. Cette transparence est la garantie d'un bon fonctionnement et permettra d'éviter des malentendus quant à l'interprétation des résultats fournis par le laboratoire.

REFERENCE

- [1] Intoxication aiguës en réanimation 2^{ème} édition sous la direction de Vincent DANIEL PATRICK BARRIOT
- [2] Organisation Mondiale de la santé. Rapport mondial sur la prévention des traumatismes chez l'enfant. Genève ; 2008, Revue Toxicologie Maroc Mai 2009.
- [3] [http:// www.mediadico.com/dictionnaire/definition/paracétamol](http://www.mediadico.com/dictionnaire/definition/paracétamol)
- [4] Bonnefont J., Courade J.-P., Allaoui A., Eschalier A. « Mécanismes de l'action antinociceptive du paracétamol ». Drugs, 2003, 63, N° spécial 2, 1-4. Abstract - Related Articles
- [5] O'Grady JG, Alexander GJM, Hayllar KM, Williams R.. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure : relation to other prognostic indicators. Gut 1992; 33: 98-102.
- [6] Proudfoot A Intoxication par le paracétamol. In : Jaeger, Vale JA, eds. Intoxications aiguës. Paris : Elsevier, 1999 : 249-261.
- [7] Toxicologie clinique, coordinatrice : HANTAL BISMITH, Auteur : Frédéric Band
- [8] Ellenhorn MJ. Acetaminophen. Baltimore: Williams & Wilkins, 1997 :180-192.
- [9] Mofenson HC, Caraccio TR, Nawaz H, Steckler G Acetaminophen induced pancreatitis. J Toxicol Clin Toxicol 1991; 29: 223_30.
- [10] Lip GYH, Vale JA. Doses acetaminophen damage the heart ? J Toxicol Clin Toxicol 1996; 34 : 145-7
- [11] Jones AL, Lheureux P. Progrès récents dans le traitement des intoxications au paracétamol. Rean Urg 1998; 6 : 643-658
- [12] Intoxication par le paracétamol par Fabienne Moritz, Jean-Michael Droy :355
- [13] Jones AL, Lheureux P. Progrès récents dans le traitement des intoxications au paracétamol. Rean Urg. 1998; 6 : 643-658.
- [14] Vale JA, Proudfoot AT. Paracétamol (acetaminophen) poisoning. Lancet 1995; 346 547-552.

[15] Danel V, Barriot P. Intoxications aiguës en réanimations, 2^{ème} édition, Arnette, Malmaison, 1999.

[16] Smilkstein MJ, Knapp GL, Kulig DW, Rumack BH. Efficacy of oral N-acetylcysteine in the treatment of acetaminophen overdose : analysis of the national multicenter study (1976 to 1985). *Neurology* 1988 ;319 : 1557-1562.

[17] *Revue de toxicologie Maroc* N 4-1^{er} trimestre 2010 page 9-10.

[18] *Éléments de toxicologie Analytique OMS*, 1997, 2004-25..