



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche  
Scientifique



Université de Laarbi Tébessi –Tébessa-  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département : Biologie Appliquée

## *MEMOIRE*

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

**Domaine :** Sciences de la nature et de la vie

**Filière :** Sciences biologiques

**Option :** Pharmacotoxicologie

# ETUDE DE LA TOXICITE DE SOFOSBUVIR CHEZ LES PATIENTS DE L'HEPATITE C

**Présenté par :**

M<sup>elle</sup>. GRIB Amira

Mme. CHABI Imene

**Devant le jury:**

**M. GASMI Salim**

**MCB** Université de Tébessa **Président**

**Mme. ROUACHEDIA Rokaya**

**MAA** Université de Tébessa **Examinatrice**

**Mme. HAMEL Mahdia**

**MAA** Université de Tébessa **Promotrice**

**Date de soutenance : 17/06/2020**

*Note :*

*Mention :*





# REMERCIEMENT

*Avant tout je remercie ALLAH, le tout puissant pour le courage qu'il m'a donné pour surmonter toutes les difficultés durant mes années d'études ainsi que l'endurance pour réaliser ce travail.*

*Ma seconde pensée vont bien entendu à mon encadreur de mémoire ; Mme Hamel Mahdia professeur à l'université de Cheikh Laarbi Tebessi (Tébessa) pour sa disponibilité et ses orientations pour élaborer ce projet .*

*Je remercie aussi*

*Dr Gesmi Salim ; d'avoir accepté de présider le jurie*

*Dr Rouachdia R ; d'avoir accepter de juger ce travail*

*Mes remerciements vont à toutes personne qui a participé de près ou de loin dans la réalisation de mon travail*

*AMIRA*



## *Remerciements*

Avant toute chose, Je tiens à remercier le bon Dieu le tout puissant de m'avoir donné la force et la patience de mener à bien ce travail.

Je remercie mon encadreur **Madame HAMEL MAHDEIA**, pour sa patience, et surtout pour sa confiance, ses remarques et ses conseils, sa disponibilité et sa bienveillance. Ce mémoire n'aurait sans doute jamais abouti sans lui.

Un grand MERCI pour :

Les Médecins de service infectieux dans l'hôpital de bekaria wilaya de Tébessa. Bougerra Boulaaressse **Docteur Nourri** .**Docteur labiode Hadia** .qui m'ont apporté leur soutien et leur aide,pour ses conseils et encouragements.

Je tiens à remercier mes collègues Amira ,Chaima ,Louisa , Takoua ,Bouthaina , qui ont étaient toujours là pour m'encourager et me soutenir.

Ainsi que le personnel et tous les enseignants de la faculté de biologie Tébessaen signe d'un profond respect. J'aimerais remercier toutes l'équipe de service infectieux hôpital de bekaria Tébessa , pourleur aide ainsi leur sympathie et gentillesse, particulièrement aux techniciens **Souahi Basma**.

Je remercie mes collègues de la promotion pharmacotoxicologie.

Enfin, merci à ma famille et surtout a mon Marie qui a toujours fait bien plus que me soutenir et m'encourager.

IMENE

# Dédicace

*A ceux ; qui dès que j'ai ouvert mes yeux à la vie , j'ai les trouvés devant moi , qui mon aidé et guidé mes pas, et m'ont appuis les principes de la vie , qui mon couvert par leur amour, et par leur tendresse ,à qui tout les mots du monde n'arriveront jamais à les décrire, à mes chers parents , ma mère Yasmin et mon père Ammar, ceux qui m'ont tant donnés sans rien demander.*

*A mes très chers frères : Achour et Hassan*

*A ma très chère sœur : Nakhla*

*A mes belles sœurs : Yasmína et Imene*

*A mon fiancé Hamza qui m'a soutenue et encouragé durant mes études*

*A mes cousins et cousines :*

*AMIR , LILA , HAMID*

*A ma très chère tante : FERYEL*

*A mes chères amis surtout ; Riham , Imene , Hadil, Amira et Nour , chaïma rabhallah.....avec qui j'ai passé les beaux moments de ma vie,*

*A tous mes collègues de la promotion 2019/2020.*

*AMIRA*



# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail, à mes très chers **parents** qui ont suivi avec attention et un grand intérêt mon parcours et ont mis à ma disposition tous les moyens requis pour mon éducation et mon instruction.*

***A** mes chers frères et à mon marie . Que la solidarité fraternelle que nous cultivons depuis toujours ne s'estompe jamais.*

***A** ma grande sœur et leur famille*

***A** « Amira »*

***A** mes très chères amies et leurs familles :*

***Souhila ,Chaima ,Bouthaina***

***A** mes collègues de cette année surtout « Amira ».*

***A** toute personne que j'aime.*

*IMENE*



## Sommaire

<i>PRESUME</i> .....	
المخلص .....	
Abstract .....	
Résumé .....	
Liste des figures .....	
Liste des tableaux .....	
Liste des abréviations .....	
<i>INTRODUCTION GÉNÉRALE</i> .....	
Introduction .....	
<i>Partie théorique</i> .....	4
<i>Chapitre I : l'hépatite virale c.</i> .....	5
I.1-Les virus des hépatites virales .....	6
I.2-le virus de l'hépatite C (VHC).....	6
I.2-1La Structure du génome.....	7
II-La physiopathologie .....	8
III- Hépatite aigue .....	10
III.1-Évolution.....	10
III.2- Marqueurs viraux recherchés dans une hépatite aigue.....	11
IV-Hépatite chronique.....	11
IV.1- Hépatite chronique avec transaminases normales .....	11
IV.2 Hépatite chronique minime .....	11
IV.3- Hépatite chronique modérée ou sévère.....	12
IV.3.1- Évolution d'hépatite chronique.....	12
V. Cirrhose et carcinome hépatocellulaire .....	13
VI. Les modes de transmission et les populations à risque .....	13
VI.1-Mode de transmission .....	13
VI.1.1- Transmission parentérale transfusionnelle.....	14
a) Transfusion sanguine .....	14
VI.1.2- Transmission parentérale non transfusionnelle.....	14
a) Toxicomanie intraveineuse .....	14
b) Suite à un accident d'exposition au sang (AES).....	14
c)Les transmissions nosocomiales .....	14
VI.1.3- Transmission non parentérale dite sporadique .....	14
a) Transmission sexuelle .....	14

b) Transmission verticale de la mère à l'enfant .....	15
VII . Méthodes de diagnostic biologique .....	15
VII.1-Les tests sanguins indirects .....	15
- test de dépistage .....	15
Test de validation .....	16
VII.2- Les tests sanguins directs .....	16
-Détection qualitative de l'ARN du VHC .....	16
-Détection quantitative de l'ARN du VHC .....	16
VII.3- épidémiologie .....	17
<i>Chapitre II: Le sofosbuvir</i> .....	19
I .le traitement de l'hépatite C .....	20
I.1-Traitement par Sofosbuvir .....	20
I.1.2-Définition de sofosbuvir .....	20
I.1.3-Structure chimique de sofosbuvir .....	20
II .Mécanisme d'action .....	21
II.1- Médicaments Associés avec le sofosbuvir .....	22
II.2-Pharmacocinétique .....	22
a) Absorption.....	23
b) Distribution .....	23
c) Biotransformation .....	23
d) Élimination.....	24
II.2.1-Linéarité/Non-linéarité .....	24
III. Pharmacocinétique chez les populations particulières .....	24
III.1-Sexe et race .....	24
a) Personnes âgées.....	24
b) Insuffisance rénale .....	25
c) Insuffisance hépatique.....	26
IV .Relations pharmacocinétique/pharmacodynamique.....	27
<i>Parti e pratique</i> .....	28
<i>I-Matériel et méthodes</i> .....	29
I-Matériel et méthodes .....	30
I-1-Matériels.....	30
I-2-Méthodes .....	30
I-2-1-Méthodes de dosage .....	30
I-2-2-dosage biochimique.....	30

I-2-2-1- dosage enzymatique de Phosphatases alcalines (PLT).....	30
-Définition .....	30
-Principe .....	30
-Réactifs .....	31
-Préparation du réctif.....	31
-Stabilité .....	31
-Prélèvement.....	31
-Mode opératoire .....	31
-Calcul .....	32
-Linéarité .....	32
-Valeurs usuelles .....	32
I-2-2-2- dosage de la Bilirubine (BLR).....	32
-Définition .....	32
-Taux élevé de bilirubine peut être le signe .....	33
-Principe .....	33
-Echantillon .....	33
-Mode opératoire .....	33
-Préparation de l'étalon (R4).....	33
-Lecture .....	34
- dosage de la bilirubine total .....	34
-Solution de travail .....	34
-Stabilité à l'obscurité .....	34
-Bilirubine directe .....	34
-Solution de travail (B.D).....	34
-Stabilité à l'obscurité .....	35
-Calcul (B.T et B.D.).....	35
Note :.....	35
I-2-2-3- Dosage de l'activité enzymatique des transaminases TGO/TGP (ALAT/ASAT) .....	36
-Définition .....	36
-Principe .....	36
-Réactif .....	37
-Echantillons.....	37
-Mode opératoire .....	37
-Linéarité .....	39
-Valeurs usuelle :.....	39

I-2-2-4- dosage de l'urée .....	39
-Définition .....	39
-Taux d'urée élevé dans le sang peut être le signe .....	39
-Taux d'urée bas dans le sang .....	39
-Taux d'urée élevé dans les urines .....	39
-Taux d'urée bas dans les urines .....	39
-Principe .....	40
-Réactifs .....	40
-Préparation et stabilité : .....	40
-Echantillons.....	40
-Calcul .....	41
-Linéarité .....	41
-Valeurs usuelles .....	41
I-2-2-5- dosage de la créatinine.....	41
-Définition .....	41
-Taux de créatinine élevé dans le sang peut s'observer .....	42
-Taux de créatinine élevé dans les urines peut s'observer .....	42
-Taux de créatinine bas dans les urines peut s'observer : .....	42
-Principe .....	42
-Réactifs .....	42
-Préparation et stabilité.....	43
-Echantillons.....	43
-Mode opératoire .....	43
-Calcul .....	43
-Linéarité .....	43
-Valeurs usuelles .....	44
II-Etude statistique : .....	44
III-Résultats .....	46
III-1-Variation de l'activité enzymatique de l'aspartate aminotransférase(ASAT /TGO)(U/ml) .....	46
III-2-Variations enzymatique de l'alanine aminotransférase (ALAT/ TGP) (U/ml).....	47
III- 3- Variation de l'activité enzymatique de phosphatases alcalines (PLT )(U/l) .....	48
III-4-Variation de la concentration de la bilirubine totale et directe (BLRt /BLRd)( mg/L) ...	49
III-5- variation de la concentration de l'urée ( g/L). .....	50
III-6-variation de la concentration de la créatinine (mg/L).....	51
Discussion et analyses des résultats .....	53

I- Effet de Sofosbuvir 400 mg sur le foie (bilan hépatique) : .....	53
II-Effet de Sofosbuvir 400 mg sur les reins (bilan rénale) :.....	54
Conclusion.....	
Références bibliographiques .....	
Annexes .....	

*PRESUME*

## المخلص

التهاب الكبد C هو التهاب في الكبد ناجم عن فيروس التهاب الكبد C ولم يتمكن الباحثون من تطوير لقاح أو علاج فعال حتى اليوم, مؤخرًا sofosbuvir مثبط إنزيم RNA بوليميراز NS5B تم تسويقه كعلاج لالتهاب الكبد الوبائي ومع ذلك ، فإن حدود هذا العلاج من حيث الفعالية والآثار غير المرغوب فيها تتطلب تطوير جزيئات جديدة .

التأثير العلاجي والسمي لهذا الدواء على بعض العوامل البيوكيميائية الأنزيمية في الكبد والكلى لدى مرضى التهاب الكبد C كان موضوع عملنا ، وقد أجريت الدراسة على 42 مريضا (النساء / الرجال) يعالج لمدة 03 إلى 06 اشهر ب 400 mg sofosbuvir تشير نتائج الانخفاض في النشاط الإنزيمي للترانسامينازات (ALAT /ASAT) و phosphatases alcalines (PLT) و bilirubine الكلي والمباشر (BLRt/BLRd) بعد العلاج باستخدام sofosbuvir إلى تأثيرها العلاجي على الكبد تشير إلى أن sofosbuvir له تأثير سام على الكلى ، عن طريق زيادة تركيز اليوريا (urée) و الكرياتينين ( créatinine) مما يؤدي إلى الفشل الكلوي

## **Abstract**

Hepatitis c is an inflammation of the liver caused by the HCV virus for which researchers have not been able to develop any vaccine or effective treatment until today. Recently, sofosbuvir is an inhibitor of RNA polymerase NS5B , has been marked as a treatment for hepatitis c. The therapeutic and toxic effect of this medicament on some enzymatic biochemical parameters in the liver and kidneys in hepatitis c patients has been the subject of our work , the study is done for 42 patients (women/man) treated for 03 to 06 months with sofosbuvir 400 mg

The results of the decrease in the enzymatic activity of transaminases and alkaline phosphatase and bilirubin (BLRt/BLRd) following treatment with sofosbuvir suggests their therapeutic effects on the liver .

We indicate that sofosbuvir has a toxic effect on the kidneys by increasing the concentration of urea and creatinine.

## **Résumé**

L'hépatite C est une inflammation du foie provoquée par le virus VHC pour laquelle les chercheurs n'ont pu mettre au point ni vaccin ni traitement efficace jusqu'aujourd'hui. Récemment, le sofosbuvir, un inhibiteur de l'ARN polymérase NS5B, a été mis sur le marché comme traitement de l'hépatite C. Cependant, les limites de ce traitement en termes d'efficacité et d'effets indésirables imposent de développer de nouvelles molécules. L'effet thérapeutique et toxique de ce médicament ( Sofosbuvir ) sur quelques paramètres biochimiques enzymatiques dans le foie et les reins chez les patients de l'hépatite C a fait l'objet de notre travail , l'étude est faite sur 42 malades (femmes/et hommes) traité pendant 03 à 06 mois par le sofosbuvir 400 mg .

Les résultats montrent d'une part une diminution de l'activité enzymatique de transaminases ( TGO et TGP) et de la phosphatase alcaline (PLT) et la Bilirubine totale et directe ( BLRt et BLRd) suite au traitement par le sofosbuvir suggère leur effet thérapeutique sur le foie.

Et d'autre part que l'augmentation de la concentration de l'urée et la créatinine conduisant à une insuffisance rénale.

## Liste des figures

N°	Titre	Page
01	structure du virus de l'hépatite C	05
02	organisation du génome de VHC	06
03	cycle répliatif du VHC	08
04	histoire naturelle et prise en charge de l'hépatite c	09
05	stratégie diagnostic de l'hépatite virale C	17
06	la structure chimique du médicament (sofosbuvir)	20
07	mécanisme d'action de sofosbuvir	21
08	variation enzymatique de l'aspartate aminotransférase (ASAT/TGO)(U/ml)	43
09	variation de l'activité enzymatique de l'alanine aminotransférase(ALAT/TGP)(U/ml)	44
10	variation enzymatique de phosphatases alcalines (PLT) U/L	45
11	variation de la concentration de bilirubine totale et directe (BLRt/BLRd)(mg/L).	46
12	variation de la concentration de l'urée (g/L).	47
13	variation de la concentration de créatinine (mg/L).	48

## Liste des tableaux

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Principales caractéristiques des virus des hépatites virales	<b>04</b>
<b>02</b>	Effet de divers degrés d'insuffisance rénale sur les expositions (ASC) aux sofosbuvir et GS-331007 en comparaison à des sujets ayant une fonction rénale normale	<b>25</b>
<b>03</b>	nombre des malades traités par le sofosbuvir 400 mg	<b>27</b>
<b>04</b>	variation de l'activité enzymatique de l'aspartate aminotransférase (ASAT/TGO) U/ml	<b>53</b>
<b>05</b>	variation enzymatique de l'alanine aminotransférase(ALAT/TGP) U/ml	<b>53</b>
<b>06</b>	variation enzymatique de phosphatases alcalines (PLT ) U/L	<b>53</b>
<b>07</b>	variation de la concentration de bilirubine totale et directe (BLRt /BLRd). mg/L	<b>54</b>
<b>08</b>	variation de la concentration de l'urée . g/L	<b>54</b>
<b>09</b>	variation de la concentration de créatinine .mg/L	<b>55</b>

## **Liste des abbreviations**

VHC: Virus de l'hépatite C

VIH: Virus de l'immunodéficience humaine

AND: Acide désoxyribonucléique

ARN: Acide ribonucléique

OMS: Organisation mondiale de la santé

VHA : Virus de l'hépatite A

VHB: Virus de l'hépatite B

VHE: Virus de l'hépatite E

VHD: Virus de l'hépatite D

HVR: Hypervariable

CHC: Carcinome hépatocellulaire

PCR: Polymerase Chain Reaction

ALAT: Alanine Aminotransférase

IgM: Immunoglobuline M

HBs: Hépatite B surface

RIBA: Recombinant Immuno blot Assay

ELISA :Enzyme-linked immunosorbent assay

OATP: Organic-anion-transporting polypeptides

MAT : Multifocal Atrial Tachycardia

BCRP: Breast cancer Resistance Protein

MRP: Medicaments Radio Pharmaceutiques

CES :Camurati-Engelmann disease

CAT : Cathépsine

HINT : Hierarchical Interpolation

ASC : Ambulatory Surgical Center

CYP : Cytochrome P450

UGT : Uridine diphospho-glucuronosyl transferase

IR : Insuffisance rénale

IRT : Insuffisance rénale terminale

DFG : Débit de filtration glomérulaire

CPT : capacité pulmonaire totale

RVS : Réponse virologique soutenue

EPH: Établissement Hospitalier.

PLT: phosphatase Alcalines.

BLRT: Bilirubine Totale.

BLRD: Bilirubine Directe.

DMSO: Diméthyle sulfoxyde.

EDTA: Éthylène diamine tétraacétique.

ASAT: Aspartate\_ amino\_ trransférase.

ALAT: Alanine aminotransférases.

TGO: Glutamate\_pyruvate\_Transaminase.

DO: Densité\_ Optique.

*INTRODUCTION*  
*GENERALE*

## **Introduction**

Le virus de l'hépatite C (VHC) a été identifié à la fin des années 1980 comme l'agent responsable de la plupart des hépatites non-A non-B (**Weiner et al.,1989**).

Le VHC est un virus enveloppé à ARN qui fait partie du groupe des Flaviviridæ (**Houghton et al.,1989**). Il n'existe pas actuellement de système efficace de culture du virus, ce qui constitue un handicap pour l'évaluation des méthodes diagnostiques et des agents thérapeutiques(**Touzani, 2012**). Le tropisme du virus ne se limite pas à l'hépatocyte et des séquences d'ARN viral ont été détectées notamment dans les cellules mononuclées du sang périphérique(**Overby et al., 1989**).

L'infection à VHC est caractérisée par un risque élevé de passage à la chronicité et la multiplication virale persiste tout au long de l'évolution de la maladie. L'hépatite aiguë est constante au cours de l'infection par le VHC. Dans environ 20 % des cas, cette hépatite évolue spontanément vers la guérison et dans environ 80 % des cas vers la chronicité. La probabilité de développer une cirrhose est estimée à 20 % après un délai moyen d'une quinzaine d'années(**Bradley et al., 1989**).

Une fois la cirrhose constituée, le patient est exposé aux risques de défaillance hépatique et/ou de survenue d'un carcinome hépatocellulaire dont l'incidence annuelle est de l'ordre de 3 à 5 %. L'infection à VHC peut être également à l'origine de manifestations extra-hépatiques variées dont certaines peuvent être améliorées par le traitement antiviral.

La vitesse de progression de l'hépatite vers la cirrhose est modifiée par différents facteurs, notamment l'âge au moment de la contamination, le sexe et la consommation d'alcool. Des facteurs génétiques liés au système HLA et le génotype du virus lui même pourraient également intervenir. La variabilité importante du virus, expliquant son échappement à la réponse immune, rend également difficile l'obtention d'un vaccin efficace (**Bettinger, 2004**). La mise en œuvre d'une sélection stricte des donneurs de sang, associée au développement de tests sérologiques fiables, a permis une réduction considérable du risque transfusionnel et une baisse de l'incidence de l'infection Actuellement, la toxicomanie devient le principal facteur de risque (**luncheon et al .,2009**).

Les autres facteurs sont moins bien documentés, mais la transmission nosocomiale a joué, sans doute, un rôle non négligeable. L'hépatite virale C (HVC) est considérée comme un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale( **Saadi et al., 2009**).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), le VHC, avec 170 millions de porteurs chroniques soit 3% de la population générale, est présent dans toutes les régions du monde mais avec des variations géographiques entre Afrique (5.3%), Amérique (1.7%), Méditerranée Orientale (4.6%), Europe (1%), Asie du Sud-est (2.2%) et Pacifique Occidentale (3,9%). L'OMS a même défini des niveaux de prévalence regroupés comme suit : <1% ; 1-2.49 % ; 2,5-4.99 % ; 5-9.99 % et  $\geq 10$  % (**OMS, 2019**).

Cependant, des hétérogénéités importantes peuvent être observées à l'intérieur d'une même zone, voire à l'intérieur du même pays. En Europe et en Amérique, il existe un gradient croissant Nord-Sud. Sur le continent africain, l'Afrique de l'Ouest et l'Afrique centrale paraissent être des zones de haute endémicité ; alors qu'au nord du continent, la séroprévalence est modérée dans le Maghreb, plus élevée en Lybie et très forte en Egypte.

En Algérie, faute d'études épidémiologiques récentes concernant la population générale algérienne, on ne dispose que des estimations selon lesquelles la séroprévalence du VHC varierait de 1,09 % à 7,63% dans les 6 wilayas de l'Est du pays (prévalence : 3,43%). Son traitement est bien codifié et repose actuellement sur la bithérapie associant l'interféron et La ribavirine qui reste un traitement onéreux dans les pays sans couverture sanitaire généralisée comme l'Algérie.

L'ampleur de la population infectée (même si l'incidence est devenue plus faible) et le risque d'évolution grave en 10 à 30 ans font de l'infection à VHC un enjeu important de santé publique. Des actions visant à sensibiliser le personnel de santé à l'égard de l'hépatite C et à encourager le dépistage et la prise en charge des malades sont recommandées.

Dans ce cotexte notre travail a pour objectif d'évaluer l'effet d'un médicament de l'hépatite C ,Sofosbuvir 400mg sur le foie et le rein .

# *Partie théorique*

*Chapitre I : l'hépatite  
virale c*

## I.1-Les virus des hépatites virales

Les hépatites virales regroupent les infections provoquées par des virus se développant aux dépenses du tissu hépatique. L'infection humaine par les virus des l'hépatite est associée à une première phase d'incubation durant laquelle le virus atteindra les hépatocytes, puis une phase de réplication et de production qui conduisent à la libération de particules virales dans la circulation sanguine (**Khuroo, 2003 ; coulis, 2006**).

Les hépatites virales sont essentiellement dues à cinq virus différents (Tableau 1) appartenant à des familles distinctes; ils sont classés schématiquement en deux groupes sur la base de leurs modes de transmission et de leur évolution clinique (**Buisson et al., 1994 ; Handra-Luca et al., 2007**).

**Tableau 1:** Principales caractéristiques des virus des hépatites virales (**Naveau, 2003**).

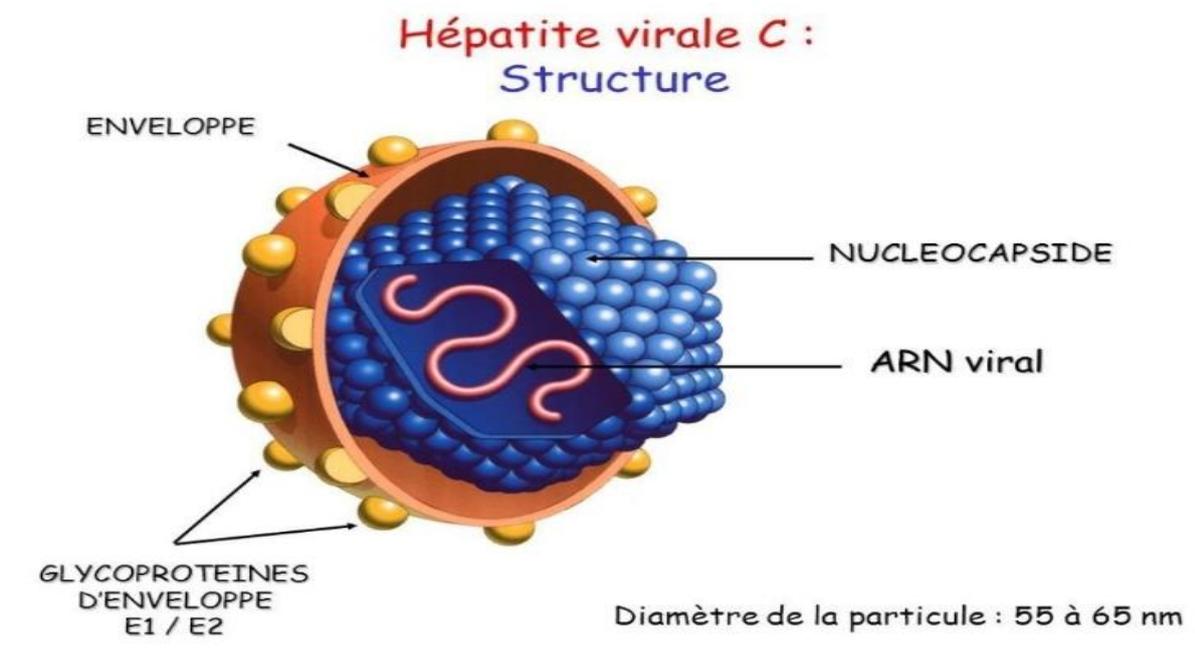
	VHA	VHB	VHC	VHD	VHE
Famille	<i>Picornaviridae</i>	<i>Hepadnaviriae</i>	<i>Flaviviridae</i>	<i>Viroidsviridae</i>	<i>Hepeviridae</i>
Génotypes	3	8	6	3	4
Acide Nucléique	ARN	ADN	ARN	ARN	ARN
Enveloppe	Non	Oui	Oui	Oui	Non
Transmission	Oro-fécale	Sanguins	Sanguins	Sanguins	Oro-fécale
Chronicité	Jamais	Souvent	Très souvent	Très souvent	Jamais
Vaccin	Oui	Oui	Non	Non	Oui

## I.2-le virus de l'hépatite C (VHC)

Le VHC est classé dans la famille des *Flaviviridae*, genre *hépacivirus*. La (Figure1) montre la structure du virus (**Chams et al. , 2003**).

Ce virus de 55 à 65 nm de diamètre, a une capsidie icosaédrique, enveloppé, à ARN simple brin de polarité positive. Son génome, long 9.5kb, est constitué d'un cadre ouvert de lecture unique encadré de 2 régions non codantes très conservées (Vaubourdolle, 2013).

Le virus de l'hépatite C présente une variabilité génomique importante. Il existe au moins 6 génotypes principaux (les génotypes de 1 à 4 sont plus fréquents) eux-mêmes séparés en sous-type (1a, 1b...) la variabilité génomique a une implication notamment sur la réponse thérapeutique (Naveau et al., 2003). (figure 1).



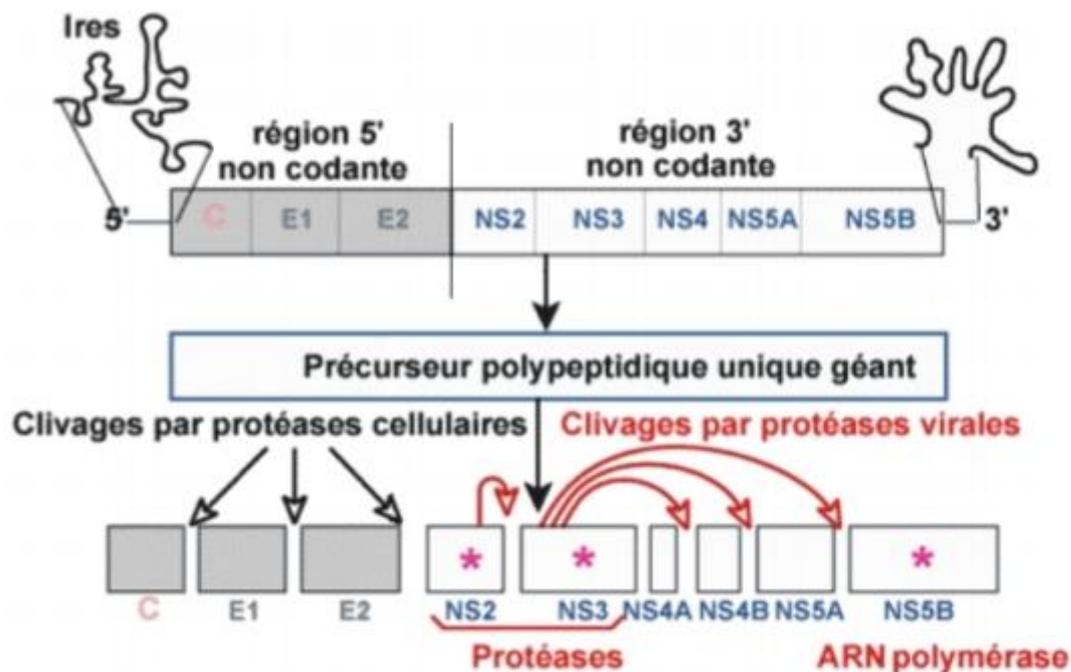
**Figure 01** : structure du virus de l'hépatite C (ephrate2.overblog.com)

### I.2-1 La Structure du génome

Le génome du HCV est une molécule d'ARN simple brin positif de 9.6 kb, qui après l'entrée du virion dans la cellule est reconnu comme un ARN messager et traduit par la machinerie cellulaire de l'hôte pour former une poly protéine précurseur d'environ 3 000 acides aminés (Figure 2) (Penin, 2004).

La poly protéine subit l'action d'enzymes cellulaires et virales au niveau de la membrane du réticulum endoplasmique (RE) pour donner naissance à 10 protéines virales : (1) les protéines structurales à savoir la protéine de capsidie ou protéine C, Les protéines d'enveloppe E1 et E2, p7 et (2) les protéines non structurales NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A et NS5B (Moradpour, 2007). Un système de numérotation de la Séquence nucléotidique et en

AA a été proposé sur la base de la séquence du génome complet de l'isolat H77 (numéro d'accèsion : AF0099606) (**Kuiken, 2006**).



**Figure02** : organisation du génome de VHC ([www.chups.jussieu.fr](http://www.chups.jussieu.fr)).

## II-La physiopathologie

Le cycle cellulaire du VHC est mal connu, du fait de l'absence de systèmes de réplication ou de culture in vitro efficaces. Le virus a un tropisme principalement hépatocellulaire, mais il est également capable de se répliquer dans les cellules mononucléées du sang. (**Mammette, 2013**).

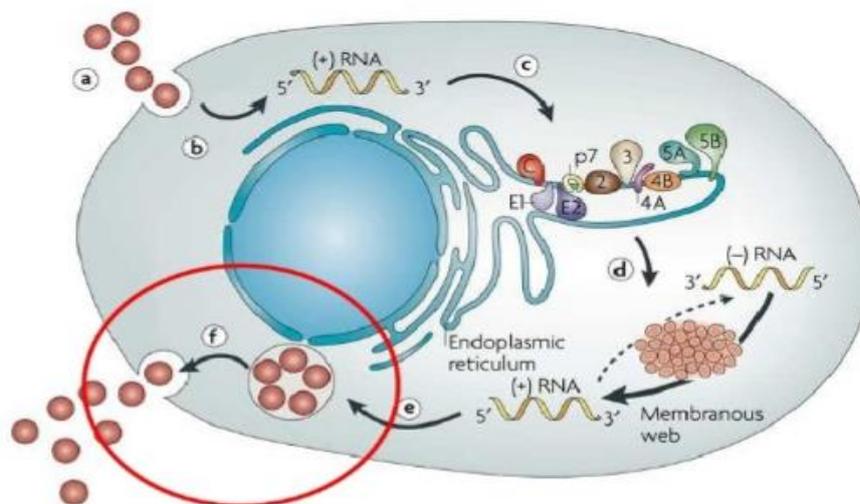
Bien que le VHC ne s'intègre pas dans l'ADN cellulaire au cours de son cycle biologique le VHC est un facteur du cancer primitif du foie (Figure 3). La réponse immunitaire dirigée contre le VHC semble faible et expliquerait la forte Prévalence des formes chroniques. Pour persister, le virus doit réguler son potentiel cytolytique et échapper à la réponse immunitaire de l'hôte. La variabilité génomique du VHC chez un patient est le reflet de l'adaptation du virus à son hôte par mécanisme de sélection actifs, et résulte d'une combinaison de facteur viraux et de facteur liés à l'hôte. Les pressions de sélection au cours de l'infection sont liées à des Contraintes structurales et fonctionnelles du virus, à la réponse immunitaire, au traitement par l'interféron et au tropisme cellulaire (**Fritz et al., 2008**).

Chez les individus infectés, le virus initial évolue sous forme d'un mélange complexe de Variant, circulant, génétiquement distinct mais apparentés. Cette distribution en quasi espèces

du virus est le reflet de son adaptation permet a son environnement sur le mode mutation-sélections. L'ARN polymérase ARN dépendante virale commet des erreurs au Cours de la réplication. Elle est incapable de relire la séquence d'ARN qu'elle vient de Polymériser et de corriger les erreurs éventuellement commises (absence d'activité dite de relecture-corrrection) (Vaubourdolle, 2013) . La présence de 2 régions hypervariables (HVR) dans la glycoprotéine d'enveloppe E2, le manque de capacité de relecture et le taux élevé de générer de nouveaux variant viraux lors de l'infection VHC permet d'évoluer en permanence, d'adapter et d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte. En outre, le VHC a développé de nombreuses stratégies pour altérer les réponses immunitaires et échapper au système immunitaire de l'hôte, en retardant et en réduisant à la fois le bras de réponse immunitaire intrinsèque et d'adaptation .Tous ces déterminants immunologiques expliquent en partie la capacité du VHC à persister dans l'organisme infecté et d'établir une infection chronique, le plus souvent sans la production des symptômes frappants, jusqu'à l'apparition de complications à long terme telles que la fibrose hépatique, la cirrhose et le CHC. Environ 75% -85% des personnes Infectées par le VHC développeront une hépatite chronique, 60%

70% développeront une stéatose hépatique ou la fibrose, 5% à 20% développeront une cirrhose et 1% -5% maladie évoluera à la vie en danger complications et HCC, dans les 20 ans à partir de l'infection aiguë (Virola, 2012).

## Cycle Viral



**Figure 03** : cycle réplcatif du VHC (Moradpour et al., 2007).

### III- Hépatite aigüe

L'hépatite aigüe survient après une incubation de 5 à 45 jours. Elle est asymptomatique dans près de 90% des cas. La guérison avec éradication du virus se voit dans 20 à 30% des cas, elle est plus fréquente en cas d'hépatite aigüe symptomatique (50%). Le diagnostic repose sur la notion de contagion et la détection de l'ARN du VHC dans le sang par PCR qui est positive avant même les signes cliniques. Les anticorps anti-VHC sont d'apparition plus tardive (50 à 190 jours après le contact). Les formes fulminantes sont exceptionnelles et leur existence est discutée (Naveau, 2003). 4 à 10 semaines suivant la contamination d'hépatite aigüe caractérisée par un pic d'augmentation des transaminases (ALAT & 10 fois la normale).

#### III.1-Évolution

Guérison dans 20 à 40% des cas, normalisation des transaminases après 10 semaines, ARN viral indétectable après 10 à 12 semaines avec développement d'anticorps anti-VHC persistants généralement à vie (mais pas d'immunité protectrice post-infectieuse) donc réinfection possible (Bianchi *et al.*, 2013).

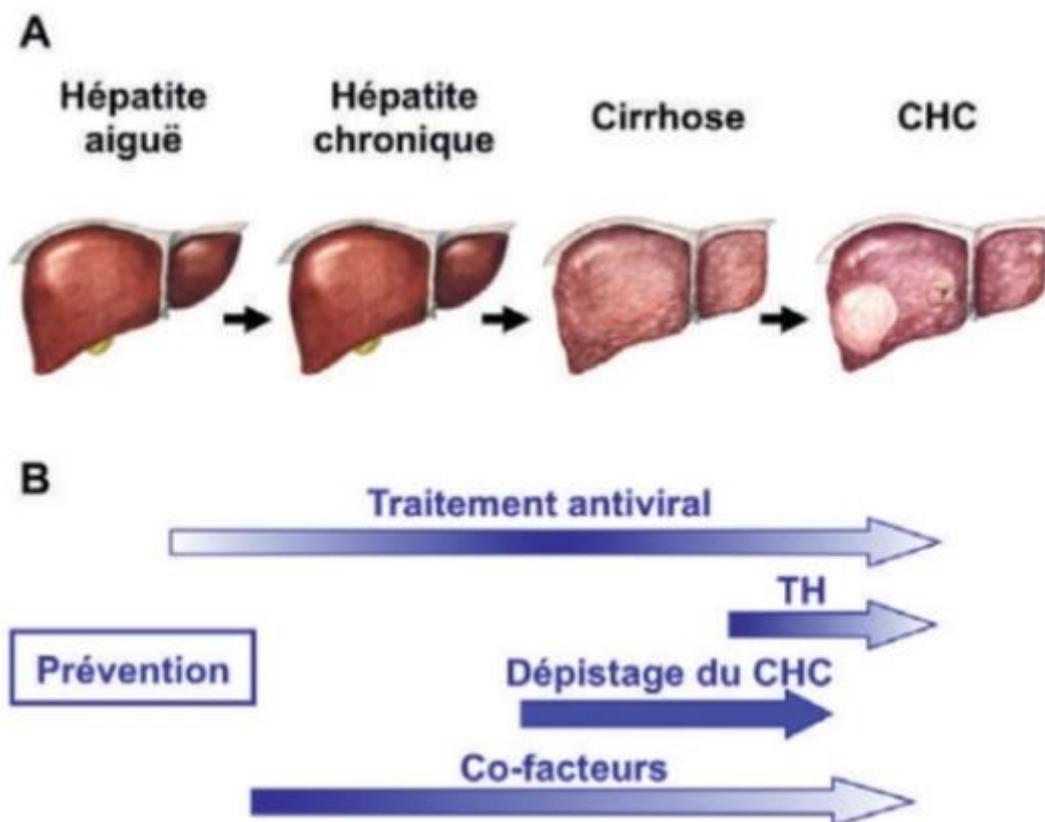


Figure 04 : histoire naturelle et prise en charge de l'hépatite c (<https://www.revmed.ch>).

### **III.2- Marqueurs viraux recherchés dans une hépatite aigue**

Le diagnostic d'hépatite aiguë repose sur le dosage des transaminases qui sont habituellement très élevées (entre 10 et 100 fois la normale). L'IgM anti-VHC, et l'antigène HBs sont les anticorps dirigés contre le virus C. Cette connaissance est utile à prévoir la chronicité éventuelle, à déterminer le mode de contamination et évaluer le risque et la prévention pour l'entourage (**Chevaliez et Pawolovsky, 2005**).

### **IV-Hépatite chronique**

On peut citer trois situations d'hépatite chronique C:

- ✓ L'hépatite chronique avec transaminases normales.
- ✓ L'hépatite chronique minime.
- ✓ L'hépatite chronique modérée ou sévère.

#### **IV.1- Hépatite chronique avec transaminases normales**

Un certain nombre de patients ayant une infection chronique par le VHC ont des transaminases normales en permanence, malgré la présence d'une virémie détectable (ARN viral détectable par PCR dans le sérum). Ces patients sont souvent identifiés lors d'un dépistage. Ce groupe représente environ 25 % des patients porteurs chroniques du VHC (10 % à 40 %). La définition de ce groupe de patients doit être stricte: positivité des anticorps anti-VHC, positivité de l'ARN VHC par PCR et transaminases strictement normales. Cela nécessite au moins trois dosages des transaminases sur une période d'au moins 6 mois (**Germi et al., 2001**)

#### **IV.2 Hépatite chronique minime**

Un autre groupe de patients atteints d'hépatite chronique C est caractérisé par une maladie du foie minime avec de l'ARN viral détectable dans le sérum par PCR et des transaminases très modérément élevées, parfois fluctuantes et transitoirement normales. La biopsie hépatique montre des lésions d'activité et de fibrose minimales. Ce groupe de patients représente actuellement environ 50 % des patients atteints d'hépatite chronique C. Ces patients sont généralement asymptomatiques, mais peuvent se plaindre, dans certains cas, d'une fatigue anormale (**Bradley, 1990**). Ce type d'hépatite chronique C évolue généralement très lentement et le risque, à long terme, de développer une cirrhose est faible. L'hépatite chronique minime est la forme la plus fréquente d'hépatite chronique C chez les patients jeunes. Cependant une minorité de ces patients peut éventuellement développer, surtout après

50 ans, une maladie plus évolutive. Ils doivent donc être régulièrement surveillés (**Takahashi et al., 1993**).

#### **IV.3- Hépatite chronique modérée ou sévère**

Le troisième groupe de patients concerne ceux atteints d'une hépatite chronique modérée ou sévère et représente environ 25 % des patients atteints d'hépatite chronique C. Ces patients sont difficiles à distinguer de ceux atteints d'une hépatite chronique minime.

Cliniquement, bien que la maladie hépatique soit plus sévère, la plupart des patients sont asymptomatiques et, s'il existe une fatigue, l'intensité de celle-ci n'est pas corrélée à la sévérité de la maladie. L'examen clinique est généralement normal. En outre, bien que ces patients aient tendance à avoir des transaminases plus élevées que les patients atteints d'hépatite chronique minime. Le taux des transaminases n'est pas un facteur pronostique pour un malade donné. Une augmentation du gamma GT, de la ferritine ou des immunoglobulines, ou une thrombopénie sont les indices d'une maladie plus sévère, mais ils ne sont pas toujours présents. L'échographie hépatique peut apporter des informations utiles, mais elle est le plus souvent normale. Aussi, la biopsie hépatique est l'examen le plus fiable pour distinguer l'hépatite chronique modérée ou sévère de l'hépatite chronique minime (**Touzet et al., 2000**).

Elle permet d'établir le pronostic et l'indication du traitement. Lorsqu'elle n'est pas possible (troubles de la Coagulation, refus du malade) ou difficile à proposer (sujet âgé), on peut demander un marqueur sérique de fibrose et/ou, si disponible, une étude par élastomères qui permet de distinguer relativement aisément les malades ayant une hépatite chronique minime de ceux ayant une hépatite chronique sévère. La biopsie hépatique montre des lésions plus marquées d'activité et une fibrose plus ou moins extensive. Cette forme d'hépatite chronique C est plus fréquente et progresse plus vite chez les patients âgés, chez les hommes et chez les patients ayant un cofacteur, tel que l'alcool ou un déficit immunitaire (**Loudot et al., 1997**) en particulier, chez les patients ayant une coïnfection VIH-VHC, la fibrose progresse plus rapidement (**Thélot et al., 2000**) On estime qu'environ 20 % des malades atteints d'hépatite chronique développeront une cirrhose en 20 ans (**Alter, 2000**). Dans certains cas, La biopsie faite lors du premier bilan met déjà en évidence l'existence d'une cirrhose.

##### **IV.3.1- Évolution d'hépatite chronique**

Fibrose évoluant vers la cirrhose dans 20 des cas en 20 ans avec un risque de cancer primitif du foie sur cirrhose (carcinome hépatocellulaire) de 3 %an (**Bianchi et al., 2013**).

- l'évolution vers la cirrhose est cependant très variable et les études épidémiologiques
- groupe à évolution rapide avec cirrhose en mois de 10ans.
  - groupe intermédiaire avec évolution cirrhogène en 20 ou 30 ans.
  - groupe à évolution lente (30 à 50 ans) (**Naveau et al., 2003**).

## **V. Cirrhose et carcinome hépatocellulaire**

La cirrhose induite par l'hépatite chronique C peut rester silencieuse pendant de nombreuses années. Les signes d'hypertension portale ou d'insuffisance hépatocellulaire apparaissent tardivement. Ainsi la cirrhose, habituellement asymptomatique, est le plus souvent découverte lors de la biopsie hépatique. Dans d'autres cas, la cirrhose est diagnostiquée à l'occasion d'une complication (hémorragie par rupture de varices œsophagiennes, ascite, ictère, encéphalopathie). Dans certains cas, le diagnostic de cirrhose est fait au stade de carcinome hépatocellulaire. L'examen clinique, l'échographie et les tests hépatiques peuvent suggérer l'existence d'une cirrhose. Chez les patients ayant une cirrhose liée à une hépatite chronique C, la mortalité due à l'hypertension portale, l'insuffisance hépatocellulaire ou le carcinome hépatocellulaire est de l'ordre de 2 % à 5 % par an (**Fattovich et al., 1997**).

## **VI. Les modes de transmission et les populations à risque**

### **VI.1-Mode de transmission**

Le virus de l'hépatite C ne peut pas se transmettre à distance par l'environnement l'homme malade est le réservoir du virus. La transmission est interhumaine, elle résulte du contact du sang d'un sujet indemne avec le sang d'un sujet infecté, de manière directe (transfusion) ou indirecte (matériel d'injection contaminé réutilisé). L'inoculum est une fraction du mélange de variant présent chez la malade source et ce quelque soit la voie de transmission. Chez le sujet receveur, l'infection est définie par la sélection de variant particuliers présents dans l'inoculum. Cette sélection peut avoir lieu à deux moments différents pendant le cycle Cellulaire du virus (**Bernstein et al., 2018**).

Lors de la réplication intra-hépatocytaire, au moment de la capture des particules virales par le foie, c'est-à-dire lorsque l'environnement est favorable à certaines variantes plutôt qu'à d'autres, quand les réponses immunitaires de l'hôte s'attaquent à la réplication virale (**Pawolovsky et al., 2004**).

## **VI.1.1- Transmission parentérale transfusionnelle**

### **a) Transfusion sanguine**

Une étude récente a montré que le risque d'infection par le VHC augmentait avec le nombre de transfusion et différait selon la période de la transfusion : Une transfusion avant 1990 était associée à un risque de 5 %, une transfusion réalisée après 1990 était associée à un risque inférieur à 0,5 %. Les mesures de sécurité transfusionnelle ont permis de réduire progressivement le risque de transmission du virus par transfusion élimination des donneurs ayant des transaminases supérieures à deux fois la normale (1988), élimination des porteurs d'anticorps anti VHC par les tests de la première génération (1990) puis de la deuxième génération (1991), élimination des donneurs ayant des transaminases strictement supérieures à la normale (1992), enfin élimination des sujets ayant des antécédents transfusionnels ou des antécédents d'endoscopie dans les six mois précédents le don (**Karmochkine, 1998**).

## **VI.1.2- Transmission parentérale non transfusionnelle**

### **a) Toxicomanie intraveineuse**

La prévalence de l'infection par le VHC chez les usagers de drogue par voie intraveineuse et voisine de 50 %, mais peut atteindre 90 % après 6 ans de toxicomanie. Le risque est lié au partage des seringues, des aiguilles, éventuellement du coton. Récemment, il a été également suggéré que l'utilisation intra-nasale de cocaïne puisse être liée de façon significative et indépendante au risque d'infection par le VHC chez les toxicomanes intraveineux, probablement en raison d'une épistaxis associée (**Guyader et Lefevre, 1998**).

### **b) Suite à un accident d'exposition au sang (AES)**

Après exposition au VHC par pique, le taux de transmission est estimé à environ 1 à 3 % le taux de transmission est environ 10 fois plus faible après exposition sur muqueuse ou sur la peau lésée (**Touibi et al., 2018**).

### **c) Les transmissions nosocomiales**

Sont également un facteur de risque important dans les unités de soins à risque (hémodialyse par exemple) mais sont en nette diminution du fait de l'amélioration du respect des Précautions standard (**Lortholary et al., 2013**).

## **VI.1.3- Transmission non parentérale dite sporadique**

### **a) Transmission sexuelle**

Apparaît particulièrement faible. Il reste impossible d'affirmer que la contamination du Partenaire n'est pas due au partage des objets de toilette ou à l'exposition à des facteurs de

risque. Les experts s'accordent pour ne pas insister sur le port de préservatif dans les Couples monogames et stables dont l'un des deux partenaires est VHC positif. Ils conseillent cependant de protéger les rapports en cas de plaie de la muqueuse génitale.

#### **b) Transmission verticale de la mère à l'enfant**

Elle est de l'ordre de 3% et plus élevée si la mère est Co-infectée par le (VIH). L'absence d'ARN viral dans le sang du cordon plaiderait en faveur d'une contamination périnatale, survenant au moment de l'accouchement ou dans la période postnatale ( **Gareil, 1997**).

### **VII . Méthodes de diagnostic biologique**

Le diagnostic de l'hépatite C repose sur deux types de tests sanguins : des tests dits indirects qui mettent en évidence les anticorps spécifiques dirigés contre le virus C et des tests directs qui mettent en évidence des constituants de la particule virale C.

#### **VII.1-Les tests sanguins indirects**

##### **- test de dépistage**

Il s'agit des tests ELISA(Enzyme-Linked Immunosorbent 68 Assay) de troisième génération dont la spécificité est de l'ordre de 99% et la sensibilité chez des patients porteurs du virus C, en moyenne de 98% ( **Colinet et al., 2001**) à la différence des tests de première et de deuxième génération qui ne sont plus commercialisés en France, la sensibilité des tests de troisième génération semble satisfaisante chez les hémodialysés et les sujets infectés par le VIH en dehors d'immunodépression ( **Thio et al.,2000**). Le test peut être faussement négatif en cas d'immunodépression sévère ou d'hépatite aiguë C (délai d'apparition des anticorps). Un résultat en test ELISA avec un ratio supérieur à 2 ou un titre élevé est souvent positif ou indéterminé en test de validation RIBA ( **watanabe et al., 1993**).

Il est possible de l'effectuer dans un centre de Dépistage anonyme et gratuit. Un résultat de sérologie virale C positif ou douteux oblige réglementairement à réaliser un deuxième test sérologique (en général un test ELISA) sur un deuxième prélèvement sanguin ( **Journal Officiel, 1997**). Un test de dépistage du VHC salivaire est possible, permettant ainsi de dépister des sujets ayant un abord veineux périphérique restreint comme les toxicomanes intraveineux. En cas d'hépatite C aiguë, le délai moyen de séroconversion est environ de 2 à 3 mois après le comptage, soit 2 à 3 semaines après le pic de transaminases. Durant cette période, seuls la PCR qualitative ou L'antigénémie du VHC permettront d'établir le diagnostic d'hépatite aiguë C. En cas de guérison virale C spontanée, les anticorps dirigés

contre le VHC soit disparaissent au cours du temps soit persistent pendant une durée indéfinie. Dans ce dernier cas la sérologie virale C reste positive mais la recherche du virus C par PCR qualitative est négative (sérologie virale C séculaire).

### **Test de validation**

#### **VII.2- Les tests sanguins directs**

##### **-Détection qualitative de l'ARN du VHC**

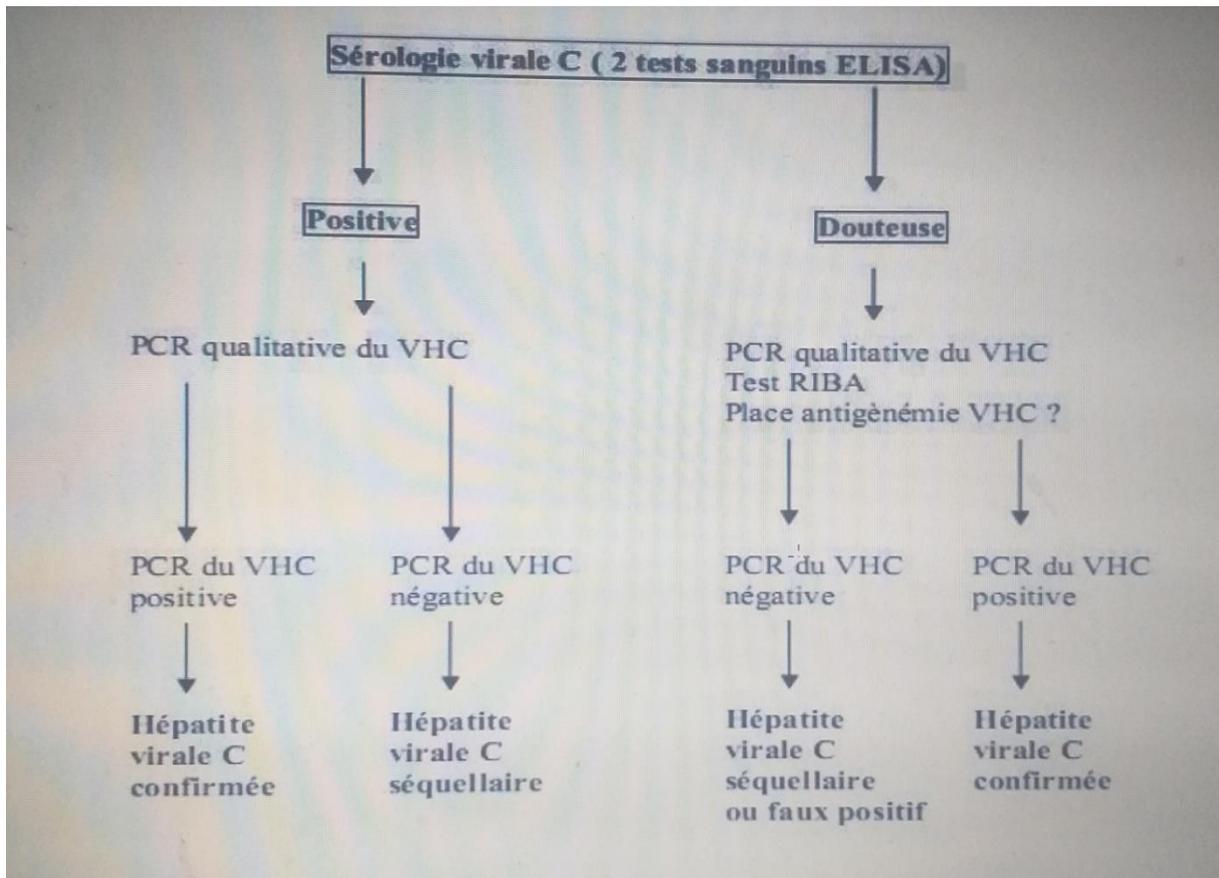
La technique la plus employée est la **PCR** (Polymérase Chain Réaction) avec amplification de la région 5' non codante (**Lunel et al., 1995**). Ce test est plus sensible que le test par bandelettes. Ces tests permettent de préciser le profil des anticorps anti-VHC dirigés contre différents antigènes du VHC par une technique d'immun blot. Les tests RIBA (Recombinant Immun blot Assay) sont actuellement de troisième génération et testent 4 protéines (en général protéine de capside ou du coré et 3 protéines non structurales), ces tests ont une meilleure spécificité que les tests ELISA. En pratique, un test RIBA sera demandé en cas de test de dépistage ELISA douteux. Cependant, dans ce cas il sera souvent nécessaire de rechercher l'ARN viral C par PCR qualitative. Quantitatif (environ 10 fois). Le seuil est de l'ordre de 100 copies de génome par ml soit environ 50 UI/ml. Les inconvénients de cette méthode sont la possibilité de faux positifs due à une contamination soit de l'échantillon soit lors de la Réalisation du test ou de faux négatifs (présence d'inhibiteurs de PCR) qui imposent un contrôle interne pour chaque échantillon analysé. Un test positif confirme l'existence d'une infection virale C.

##### **-Détection quantitative de l'ARN du VHC**

De l'antigénémie du VHC. Ce test est simple, peu coûteux, rapide (5heures). L'antigénémie est très bien corrélée à la virémie du VHC, quelque soit le génotype mais a un seuil de détection plus élevé (8 à 10 000 UI/ml). Un test positif permet de confirmer la présence du virus C. Par contre, un test négatif ne permet pas d'éliminer une hépatite C avec un faible niveau de virémie. La place de ce nouveau test dans le dépistage de masse est à préciser. Deux types de techniques peuvent être utilisées (amplification de la cible par PCR ou amplification du signal ou d'ADN branché).Le seuil de détection est en général de 600UI/ml. Depuis 1999 (**Pawolowky et al., 2000**).

Les résultats de ces tests ont été standardisés(UI/ml). Il est conseillé néanmoins, de suivre un patient toujours avec la même technique. Une virémie quantitative supérieure à 800 000 UI/ml est considérée comme élevée. Le taux de virémie quantitative n'est pas un critère

de sévérité de la maladie. La virémie quantitative n'a pas sa place dans le diagnostic de l'hépatite C. Il s'agit d'un nouveau test ELISA qui permet une quantification (figure4 ).



**Figure05** : stratégie diagnostic de l'hépatite virale C (VHC)(<https://slidplayer.fr> ).

### VII.3- épidémiologie

Problème de santé publique, 170 millions de porteurs chroniques dans le monde avec une prévalence de 3% en Algérie.

Le rapport mondial de l'OMS sur l'hépatite pour 2017 (WHO global hepatitis report,2017) indique que dans leur grande majorité , ces gens n'ont pas accès aux dépistage et aux traitement qui pourraient leur sauver la vie, par conséquent, des millions de personnes ont confrontées au risque d'évolution lente vers une maladie chronique du foie , le cancer et la mort.

Le VHC a provoqué 1,34 million de décès en 2018 , un chiffre comparable aux décès dus à la tuberculose et au VIH . mais alors que la mortalité imputable à la tuberculose et au VIH baisse , celle due à l'hépatite augmente .

Il ya eu environ 1,75 million de nouveaux cas d'infection à VHC en 2019 , portant à 71 million le nombre total de personnes vivant avec l'hépatite C dans le monde ( **OMS ,2020**).

## *Chapitre II: Le sofosbuvir*

## **I .Le traitement de l'hépatite C**

Le traitement de l'hépatite virale chronique C s'est profondément modifié ces dernières années avec l'apparition de nouveaux agents antiviraux directs, disponibles par voie orale, très efficaces et globalement bien tolérés. Leur objectif est l'obtention d'une éradication virale, globalement obtenue dans plus de 90% des cas (**Dhumeaux, 2014**)

### **I.1-Traitement par Sofosbuvir**

Un nouveau traitement pour l'hépatite C a été développé par les multinationales mais à un coût très élevé. Les Laboratoires BEKER® ont décidé alors de se livrer à la recherche d'une solution accessible au patient par le développement de la version générique du Sofosbuvir, le Sofos® a un prix 70 fois moins cher que le princeps.

Sofos® est un médicament utilisé pour traiter l'infection par le virus de l'hépatite C chez l'adulte (18 ans et plus). Ce médicament agit en réduisant la quantité du virus de l'hépatite C dans votre organisme et en éliminant le virus de votre sang au bout d'un certain temps.

Sofos® est toujours pris avec d'autres médicaments. Seul, il n'est pas efficace. Il est fréquemment prescrit avec : la ribavirine, ou le peginterféron alfa plus la ribavirine, ou en association

#### **I.1.2-Définition de sofosbuvir**

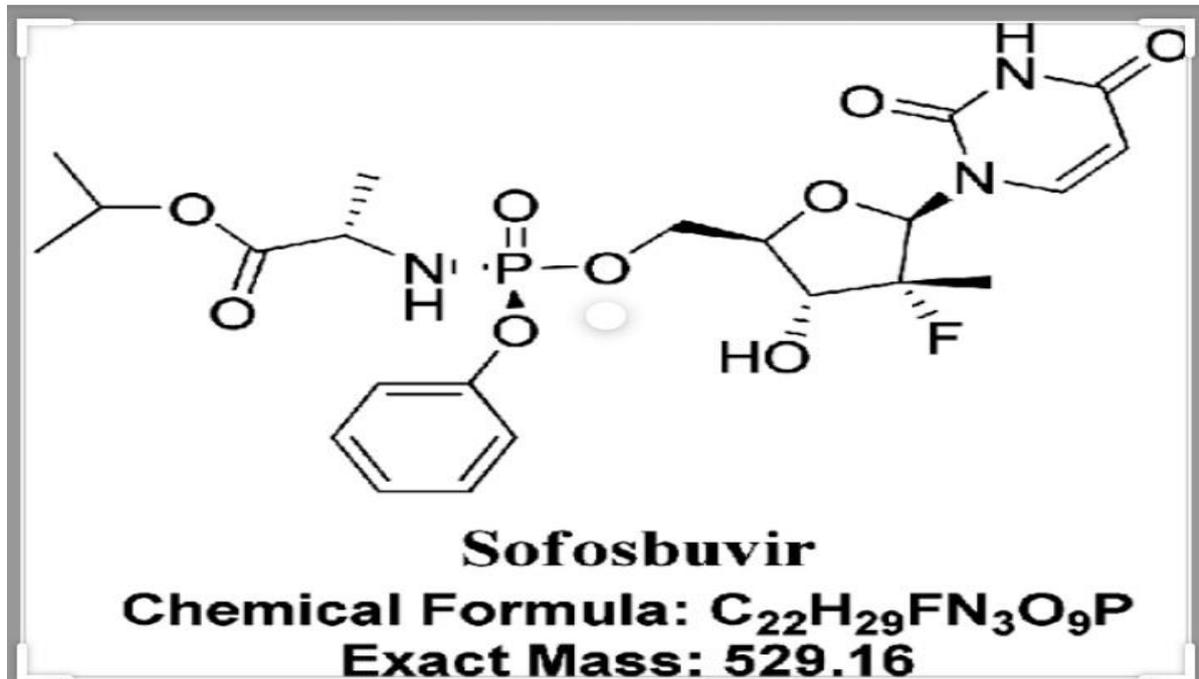
C' est un inhibiteur nucléotidique de la polymérase NS5B .Le sofosbuvir est un pro-drogue nucléotidique qui est rapidement absorbé,subit un effet de première passage hépatique et un métabolisme intestinale important ,le clivage hydraulique intracellulaire de la pro-drogue est catalysé par des enzymes comme la carboxyle estérase .ce clivage est suivie de phosphorylation réalisé par des nucléotides kinases ce qui permet d'aboutir a la formation d'un analogue de l'uridine triphosphate ,cette analogue pharmacologiquement actif peut par la suite être incorporé au niveau de l'ARN vital par la polymérase de la NS5B ,une foie intégrée

au niveau de l'ARN il agit comme un terminateur de chaine stoppant ainsi la réplication viral (**Coelmont et al., 2010 ; lanford et al., 2010**)

#### **I.1.3-Structure chimique de sofosbuvir**

La formule brute du sofosbuvir est C<sub>22</sub>H<sub>29</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>9</sub>P (Figure5). Il a donc une masse molaire de 529,453 g.mol<sup>-1</sup> et est dénommé (S)-Isopropyl 2-((S)-(((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-

dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl)-4-fluoro-3-hydroxy-4-methyltetrahydrofuran-2-yl)methoxy)-(phenoxy) phosphoramino)propanoate.

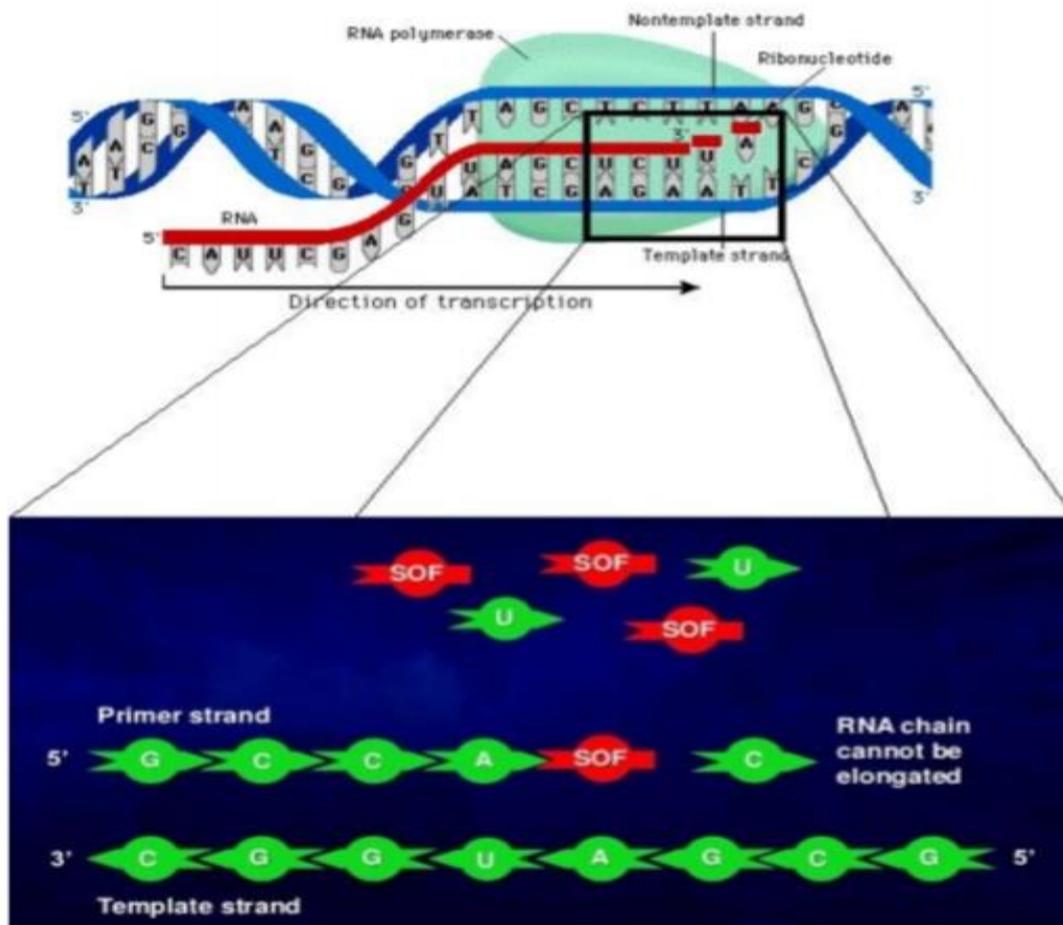


**Figure06:** la structure chimique du médicament (sofosbuvir) (<https://fr.m.wikipedia.org>).

## II .Mécanisme d'action

Le sofosbuvir est un inhibiteur pan-génotypique de l'ARN polymérase ARN-dépendante NS5B du VHC, qui est essentielle pour la réplication du virus. Le sofosbuvir est la pro drogue d'un nucléotide qui subit une métabolisation intracellulaire pour former un analogue de l'uridine triphosphate (GT-461203) actif au plan pharmacologique, qui peut être incorporé dans l'ARN viral par la polymérase NS5B et agit comme terminateur de chaîne. Dans un test biochimique, le GS-461203 a inhibé l'activité polymérase de la NS5B recombinante de VHC de génotypes 1b, 2a, 3a et 4a avec une concentration inhibitrice à 50 % (CI50) allant de 0,7 à 2,6  $\mu$ M. Le GS-461203 (le métabolite actif du sofosbuvir) n'est pas un

inhibiteur des ADN- et ARN polymérases humaines, ni un inhibiteur de l'ARN polymérase mitochondriale. ( **Gilead, 2013** ).



**Figure07** : mécanisme d'action de sofosbuvir (<https://fr.slideshare.net>).

## II.1- Médicaments Associés avec le sofosbuvir

Sofosbuvir est indiqué, en association avec d'autres médicaments, pour le traitement de l'hépatite C chronique (HCC) chez les adultes et les adolescents âgés de 12 ans à moins de 18 ans (voir rubriques Posologie et mode d'administration, Mises en garde et précautions d'emploi et Propriétés pharmacodynamiques). Parmi les médicaments Associé au sofosbuvir: **ribavirine et le peginterféron alfa**(Lawitz *et al.*, 2011) .

## II.2-Pharmacocinétique

Le sofosbuvir est une pro drogue nucléotidique qui est largement métabolisée. Le métabolite actif est formé dans les hépatocytes et n'est pas détecté dans le plasma. Le métabolite principal (> 90 %), le GS-331007, est inactif. Il est formé par une succession de réactions parallèlement à la formation du métabolite actif.

### **a) Absorption**

Les propriétés pharmacocinétiques du sofosbuvir et de son principal métabolite circulant, le GS-331007, ont été évaluées chez des volontaires sains adultes et des patients atteints d'hépatite C chronique. Après administration orale, le sofosbuvir est rapidement absorbé et le pic plasmatique est atteint ~ 0,5 à 2 heures après l'administration de la dose, quelle que soit la dose. Le pic plasmatique de GS-331007 est atteint 2 à 4 heures après l'administration. D'après l'analyse pharmacocinétique de population chez des patients infectés par un VHC de génotypes 1 à 6 (n = 986), l'ASC0-24 à l'équilibre pour le sofosbuvir et le GS-331007 était de 1010 ng.h/ml et 7200 ng.h/ml, respectivement. Par rapport aux sujets sains (n = 284), l'ASC0-24 du sofosbuvir et du GS-331007 était supérieure de 57 % et inférieures de 39 %, respectivement, chez les patients infectés par le VHC(Terrault *et al.*, 2015) .

### **b) Distribution**

Le sofosbuvir n'est pas un substrat des transporteurs d'influx hépatique, polypeptide de transport d'anions organiques (OATP) 1B1 ou 1B3 et transporteur de cations organiques (OCT) de type 1. Bien qu'il fasse l'objet d'une sécrétion tubulaire active, le GS-331007 n'est pas un substrat des transporteurs rénaux, dont le transporteur d'anions organiques (OAT) 1 ou 3, l'OCT2, la MRP2, la P-gp, la BCRP et la MATE1. Le sofosbuvir et le GS-331007 ne sont pas des inhibiteurs des transporteurs de médicaments P-gp, BCRP, MRP2, BSEP, OATP1B1, OATP1B3 et OCT1. Le GS-331007 n'est pas un inhibiteur de l'OAT1, l'OCT2 et la MATE1.

La liaison du sofosbuvir aux protéines plasmatiques humaines (données *ex vivo*) est d'environ 85 % et la liaison est indépendante de la concentration du produit, dans une plage de 1 à 20 µg/ml.

La liaison du GS-331007 aux protéines est minime dans le plasma humain. Après l'administration d'une dose unique de 400 mg de [14C]-sofosbuvir chez des sujets sains, le ratio de radioactivité (14C) sanguine/plasmatique était d'environ 0,7( Nelson *et al.*, 2015) .

### **c) Biotransformation**

Le sofosbuvir est complètement métabolisé dans le foie, pour former l'analogue de nucléoside triphosphate GS-461203 actif au plan pharmacologique. La voie d'activation métabolique implique une hydrolyse séquentielle du groupement carboxyle ester, catalysée par la cathepsine A (Cat A) humaine ou la carboxyle estérase 1 (CES1), et un clivage de phosphoramidate par la protéine HINT1 (Histidine Triad Nucleotide-binding Protein) suivi d'une phosphorylation par la voie de biosynthèse des pyrimidine-nucléotides. La

déphosphorylation aboutit à la formation du métabolite nucléosidique GS-331007, qui ne peut être re-phosphorylé efficacement et qui est dénué d'activité anti-VHC in vitro( **Leroy et al., 2016**).

Le sofosbuvir et le GS-331007 ne sont pas des substrats ni des inhibiteurs de l'UGT1A1, ni des enzymes CYP3A4, CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 et CYP2D6. Après l'administration d'une dose orale unique de 400 mg de [14C]-sofosbuvir, le sofosbuvir et le GS-331007 représentaient environ 4 % et > 90 % de l'exposition systémique aux composés apparentés (somme des ASC du sofosbuvir et de ses métabolites, corrigée des poids moléculaires), respectivement (**Nahass et al.,2015**).

#### **d) Élimination**

Après l'administration d'une dose orale unique de 400 mg de [14C]sofosbuvir la récupération totale moyenne de la dose était supérieure à 92 %, dont environ 80 %, 14 % et 2,5 % récupérés dans les urines, les fèces et l'air expiré, respectivement. La majorité de la dose de sofosbuvir récupérée dans les urines était du GS-331007 (78 %) et 3,5 % était du sofosbuvir (**Feld et al.,2014**).

Ces résultats montrent que la clairance rénale est la principale voie d'élimination du GS-331007 avec une grande proportion excrétée de manière active. Les demi-vies terminales médianes du sofosbuvir et du GS-331007 étaient de 0,4 et 27 heures, respectivement.

#### **II.2.1-Linéarité/Non-linéarité**

La linéarité à la dose du sofosbuvir et de son métabolite principal, le GS-331007, a été évaluée chez des sujets sains à jeun. Les ASC du sofosbuvir et du GS-331007 sont pratiquement proportionnelles à la dose dans une plage de doses de 200 mg à 400 mg.

### **III. Pharmacocinétique chez les populations particulières**

#### **III.1-Sexe et race**

Il n'a été relevé aucune différence pharmacocinétique cliniquement significative due au sexe ou à l'origine ethnique pour le sofosbuvir et le GS-331007(**Yoshida et al., 2015**).

#### **a) Personnes âgées**

L'analyse par pharmacocinétique des populations de patients infectés par le VHC a montré que, dans la fourchette d'âge analysée (19-75 ans), l'âge n'a pas d'effet cliniquement significatif sur l'exposition au sofosbuvir et au GS-331007. Les études cliniques du sofosbuvir ont inclus 65 patients âgés de 65 ans et plus. Les taux de réponse observés chez les patients de

plus de 65 ans étaient similaires à ceux des patients plus jeunes dans tous les groupes de traitement.

**b) Insuffisance rénale**

Des divers degrés d'insuffisance rénale (IR) sur les expositions aux sofosbuvir et GS-331007 en comparaison à des sujets ayant une fonction rénale normale, comme indiqué dans le texte ci-après, est résumé dans le tableau ( **Sulkoxsky et al., 2015**).

**Tableau 2 :** Effet de divers degrés d'insuffisance rénale sur les expositions (ASC) aux sofosbuvir et GS-331007 en comparaison à des sujets ayant une fonction rénale normale (**Food and Drug administration, 2013**)

	Sujets non infectés par le VHC				Sujets infectés par le VHC		
	IR légère (DFGe $\geq 50$ et $< 80$ ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	IR modérée (DFGe $\geq 30$ et $< 50$ ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	IR sévère (DFGe $< 30$ ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	IRT nécessitant une dialyse		IR sévère (DFGe $< 30$ ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	IRT nécessitant une dialyse
				administré 1 h avant la dialyse	administré 1 h après la dialyse		
Sofosbuvir	1,6 fois ↑	1,1 fois ↑	2,7 fois ↑	1,3 fois ↑	1,6 fois ↑	~2 fois ↑	1,9 fois ↑
GS-331007	1,6 fois ↑	1,9 fois ↑	5,5 fois ↑	$\geq 10$ fois ↑	$\geq 20$ fois ↑	~7 fois ↑	21 fois ↑

La pharmacocinétique du sofosbuvir a été étudiée chez des patients non infectés par le VHC et présentant une insuffisance rénale légère (DFGe  $\geq 50$  et  $< 80$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>), modérée (DFGe  $\geq 30$  et  $< 50$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>), sévère (DFGe  $< 30$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) et chez

des patients au stade d'IRT nécessitant une hémodialyse, après une dose unique de 400 mg de sofosbuvir par comparaison avec les patients à fonction rénale normale (DFGe > 80 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>). Le GS-331007 est éliminé efficacement par hémodialyse, avec un coefficient d'extraction d'environ 53 %. Après l'administration d'une dose unique de 400 mg de sofosbuvir, une hémodialyse de 4 heures a éliminé 18 % de la dose administrée de sofosbuvir (**Davis, 2103**).

Chez les patients infectés par le VHC présentant une insuffisance rénale sévère traités par 200 mg de sofosbuvir en association avec la ribavirine (n = 10) ou 400 mg de sofosbuvir en association avec la ribavirine (n = 10) pendant 24 semaines ou 90/400 mg de lédipasvir/sofosbuvir (n = 18) pendant 12 semaines, les pharmacocinétiques du sofosbuvir et du GS-331007 étaient cohérentes avec celles observées chez des patients non infectés par le VHC présentant une insuffisance rénale sévère.

Les pharmacocinétiques du sofosbuvir et du GS-331007 ont été étudiées chez des patients infectés par le VHC présentant une IRT nécessitant une dialyse traités par lédipasvir/sofosbuvir (n = 94) pendant 8, 12 ou 24 semaines ou par sofosbuvir/velpatasvir (n = 59) pendant 12 semaines, et comparées à des patients sans insuffisance rénale dans les essais de phase 2/3 portant sur l'association lédipasvir/sofosbuvir et l'association sofosbuvir/velpatasvir (cf Mises en garde et Précautions d'emploi) (**Alberte et al.,2014**).

### **c) Insuffisance hépatique**

La pharmacocinétique du sofosbuvir a été étudiée après 7 jours d'administration de 400 mg/jour de sofosbuvir chez des patients infectés par le VHC présentant une insuffisance hépatique modérée ou sévère (scores de CPT B et C). Par rapport aux patients à fonction hépatique normale, l'ASC0-24 du sofosbuvir était respectivement supérieure de 126 % et de 143 % en cas d'insuffisance hépatique modérée ou sévère, tandis que l'ASC0-24 du GS-331007 était respectivement supérieure de 18 % et 9 %. L'analyse par pharmacocinétique des populations chez les patients infectés par le VHC a montré que la cirrhose n'a pas d'effet cliniquement significatif sur l'exposition au sofosbuvir et au GS-331007.

Aucun ajustement de la dose de sofosbuvir n'est nécessaire en cas d'insuffisance hépatique légère, modérée ou sévère (cf Posologie et Mode d'administration). GS-331007 n'a pas été établie chez les patients pédiatriques âgés de moins de 12 ans (**Hocqueloux et al.,2017**).

#### **IV .Relations pharmacocinétique/pharmacodynamique**

Une corrélation a été observée entre l'efficacité, en termes de réponse virologique rapide, et l'exposition au sofosbuvir et au GS-331007. Cependant, aucun de ces critères n'est ressorti comme un marqueur global prédictif de l'efficacité (RVS12) à la dose thérapeutique de 400mg (**Vassilaki et Mavromara, 2003**) .

# *Parti e pratique*

# *I-Matériel et méthodes*

## I-Matériel et méthodes

### I-1-Matériels

C'est une étude épidémiologique réalisée au service d'épidémiologie du EPH Bir El-Ater et Bakarra sur 42 patients porteur d'une infection d'hépatite virale C suivis en consultation et hospitalisés et traités pendant 03 à 06 mois en 2020.

**Tableau n° :03** nombre des malades traités par le sofosbuvir 400 mg

Sexe Age	Hommes	Femmes	Totale
<60	13	09	22
>60	09	11	20
Totale	22	20	42

### I-2-Méthodes

#### I-2-1-Méthodes de dosage

##### I-2-2-dosage biochimique

##### I-2-2-1- dosage enzymatique de Phosphatases alcalines (PLT)

##### -Définition

Sont des enzymes présentent en grande quantités dans le foie, les os. une augmentations des phosphatases alcalines peut être liés à une maladie osseuse , hépatique ou certains cancers ( Iglesias, 2017).

##### -Principe

Détermination cinétique de l'activité phosphatase alcaline (PAL) selon la méthode recommandée par la société allemande de chimie clinique (DGKG) (Haussamen et *al.*, 1977).

##### PAL

nitro-4 phénylphosphate H<sub>2</sub>O -----> nitro 4 phénol+ phosphate.

### **-Réactifs**

<b>R1 : Réactif tampon</b>	
Tampon diéthanolamine (pH 9.8)	1 mol/l
Chlorure de magnésium	0.5mmol/l
<b>R2 : substrat</b>	
Nitro 4 phénylphosphate	10 mmol/l

### **-Préparation du réactif**

Réf. : 20015	R1.....	3 ml.
	R2 .....	0,3 ml.
Réf. : 20016	R1.....	10 ml.
	R2.....	1 ml.
Réf. : 20017	R1.....	30 ml.
	R2.....	3 ml.
Réf. : 20018	R1.....	50 ml.
	R2.....	5 ml.

### **-Stabilité**

Stabilité du réactif de travail:

- 15 - 25°C .....5 jours.

- 2 - 8°C.....15 jours.

### **-Prélèvement**

Sérum, plasma recueilli sur héparine, non hémolysé.

### **-Mode opératoire**

Longueur d'onde: 405 nm (Hg 400-Hg 420)

Température: 25°, 30° ou 37°C

Cuve: 1 cm d'épaisseur

Zéro de l'appareil: air ou eau distillée

Dans un tube à hémolyse introduire :	
Solution de travail	1 ml.
Equilibrer à 25°, 30° ou 37°C	
Echantillon	20 ul.

Mélanger et introduire dans une cuve thermostatée, attendre 1 minute puis mesurer l'augmentation moyenne de la D.O par minute pendant 1 à 3 minutes.

#### **-Calcul**

405 nm .....PAL (U/L) = DD.O/min x 2750.

410 nm .....PAL (U/L) = DD.O/min x 2910.

#### **-Linéarité**

Si la variation moyenne de D.O/min > 0,250 refaire le test en diluant l'échantillon au 1/5 dans une solution de NaCl à 9g /l et multiplier le résultat par 5.

#### **-Valeurs usuelles**

	25°C	35°C	37°C
Enfants	Jusqu'à 400U/L	Jusqu'à 500U/L	Jusqu'à 650U/L
Adultes	40-190U/L	50-230U/L	70-300U/L

#### **-2-2-2- dosage de la Bilirubine (BLR)**

##### **-Définition**

la bilirubine provient de la destruction des globules rouges au niveau de la rate . c'est un pigment jaune à l'origine de la coloration des urines et des selles . elle circule dans le sang , liée à une protéine , l'albumine puis est captée par le foie et est excrétée dans la bile.

La bilirubine existe principalement sous deux formes :

La bilirubine libre ou non conjuguée qui est toxique car non soluble dans l'eau, est transportée par l'albumine jusqu'au foie où elle conjuguée pour être ensuite éliminée dans les matières fécales et les urines. La bilirubine présente dans le sang est majoritairement non conjuguée **(Bême, 2015)**.

### **-Taux élevé de bilirubine peut être le signe**

D'une anémie hémolytique.

D'un déficit en conjugaison (problème au niveau de l'étape qui permet l'excrétion de la bilirubine dans la bile).

### **-Principe**

L'acide sulfanilique réagit avec le nitrite de sodium pour donner de l'acide sulfanilique diazoté. En présence de diméthyl sulfoxyde (DMSO), la bilirubine totale se couple avec l'acide sulfanilique diazoté pour donner l'azobilirubine. Le dosage de la bilirubine directe se fait en l'absence de DMSO ( **Hijmans ; Bergh et al., 1916**) ( **Walters et al., 1970**).

### **-Réactifs**

<b>Réactif 1</b>	Acide sulfanilique	30 mmol/l.
	Acide Chlorhydrique	150 mmol/l.
	Diméthylsulfoxyde	7 mmol/l.
<b>Réactif 2</b>	Acide sulfanilique	30 mmol/l.
	Acide chlorhydrique	150 mmol/l.
<b>Réactif 3</b>	Nitrite de sodium	20 mmol/l.
<b>Réactif 4</b>	Etalon <b>Voir préparation de l'étalon.</b>	

### **-Echantillon**

Sérum ou plasma recueilli sur EDTA héparine, citrate ou fluorure et conservé à l'abri de la lumière. Hémolyse gênante pour la Bilirubine.

### **-Mode opératoire**

#### **-Préparation de l'étalon (R4)**

Reconstituer le lyophilisat R4 avec exactement 3 ml d'eau distillée. Attendre 15 minutes. Compléter la dissolution du lyophilisat par retournement successifs du flacon. Les concentrations exacts sont indiqués sur chaque flacon. La stabilité à l'obscurité après reconstitution est de:

- 2 jours à 20° - 25°C.

- 4 jours à 2 - 8°C.

- 6 semaines à - 20°C.

Il est indispensable d'établir un facteur de calibration dans les conditions du laboratoire dès la reconstitution de l'étalon R4.

$F = (\text{concentration. Bilirubine Totale ou Directe}) \text{ étalon} / \text{Abs (étalon)} - \text{Abs (Blanc étalon)}$ .

**-Lecture**

Longueur d'onde: 555 nm (546 Hg).

Température: 37°C.

Cuve: 1 cm d'épaisseur.

Zéro de l'appareil: Blanc étalon ou blanc échantillon.

**- dosage de la bilirubine total**

**-Solution de travail**

(Mélanger 20 Vol R1 avec 1 vol R3.

**-Stabilité à l'obscurité**

6H à 20 -25°C /2 Jours à 2-8°C.

	Etalon		Echantillon	
	Blanc	Dosage	Blanc	Dosage
Etalon R4 50	50UL	50UL		
Echantillon 50			50UL	50UL
Réactif R1	1MI		1ML	
Solution de travail (B.T)		1ML		1ML
Mélanger et incubé exactement 5 minutes à 37°C lire l'absorbance (A) de l'étalon et l'échantillon contre leurs blancs.				

**-Bilirubine directe**

**-Solution de travail (B.D)**

Mélanger 20 vol R2 avec 1 vol R3.

### -Stabilité à l'obscurité

6 H à 20 - 25° / 2 Jours à 2 - 8°C.

	Etalon		Echantillon	
	Blanc	Dosage	Blanc	Dosage
Etalon R4	50UL	50UL		
Echantillon 50			50UL	50UL
Réactif R2	1ML		1ML	
Solution de travail (B.D)		1ML		1ML

Mélanger et incuber **exactement** 5 minutes à 37°C lire l'absorbance (A) de l'étalon et l'échantillon contre leurs blancs.

### -Calcul (B.T et B.D.)

[Bil. Tot. ou Dir.] = (Abs (A) échantillon / Abs (A) étalon) x [concentration. étalon].

[Bil. Tot. ou Dir.] = Abs (A) échantillon x F.

**Note :**

$$\begin{array}{c} \mu\text{mol} / \text{l} \ 0.585 \ \text{mg/l} \\ \rightleftarrows \\ 1.710 \end{array}$$

### -Linéarité:

BT : 20 mg/dl-200 mg/l (340  $\mu\text{mol/l}$ )

BD: 10 mg/dl-100 mg/l (170  $\mu\text{mol/l}$ )

### -Valeurs usuelles

Bilirubine totale

0.2-1.0 mg/dl; 2-10 mg/l (3.4 - 17 $\mu\text{mol/l}$ ).

Bilirubine Directe

0.0 - 0.2 mg / dl ; 0.0 - 2 mg/l (0.0 - 3.4  $\mu\text{mol/l}$ ).

### **I-2-2-3- Dosage de l'activité enzymatique des transaminases TGO/TGP (ALAT/ASAT)**

#### **-Définition**

Les transaminases sont des enzymes présentes à l'intérieur des cellules, en particulier au niveau du foie et des muscles. Elles interviennent dans une multitude de réactions biologiques.

-Les **ASAT** (aspartate aminotransférases) surtout présente dans le foie, les muscles, le cœur, les reins, le cerveau et le pancréas.

-Les **ALAT** (alanine aminotransférases) relativement spécifiques du foie.

**-Une augmentation des transaminases supérieure à les valeurs normales peut être le signe de :**

-D'une hépatite virale aiguë : l'augmentation est précoce et précède la phase ictérique.

-Une hépatite médicamenteuse et toxique.

-Une ischémie hépatique aiguë liée à une atteinte cardiaque.

**-Une augmentation prolongée (supérieure à 6 mois)**

-Une atteinte alcoolique (cirrhose hépatique, hépatite).

-D'une stéatose (lésion du foie liée à l'alcoolisme, au diabète ou à l'obésité).

-D'hépatite virale chronique (**Cardenas, 2017**).

#### **-Principe**

Détermination colorimétrique de l'activité TGO ou TGP selon les réactions suivantes :

TGO: Aspartate + acétoglutarate TGO oxaloacetate+ glutamate.

TGP: Alanine + acétoglutarate TGP pyruvate + glutamate.

Le pyruvate ou l'oxaloacétate formés sont dosés sous forme de leurs dérivés 2,4 dinitrophénylhydrazones (**Reitmans; Erankels, 1957**).

## -Réactif

<b>Réactif 1</b>		
Substrat TGO	Tampon phosphate pH 7,5	85 mmol/l.
	Aspartate	200 mmol/l.
	acétoglutarate	2 mmol/l.
<b>Réactif 2</b>		
Substrat TGP	tampon phosphate pH 7,5	95 mmol/l.
	alanine.	200 mmol/l.
	acétoglutarate.	2 mmol/l.
<b>Réactif 3</b>		
Réactif de coloration	2,4 dinitrophénylhydrazine	1 mmol/l.

plusieurs années à 2-8°C.

Le réactif 3 est à conserver à l'abri de la lumière. Réactif auxiliaire : Soude 0,4 N.

## -Echantillons

Sérum. Hémolyse gênante.

## -Mode opératoire

Longueur d'onde : 505 nm (490 à 520 nm).

Zéro de l'appareil : eau distillée.

## - Courbe d'étalonnage

Dans des tubes à essai répartir (en ml)

N° des tubes	1	2	3	4	5
Eau distillée	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Réactif 1	1	0,9	0,8	0,7	0,6
Réactif 4	-	0,1	0,2	0,3	0,4
Réactif 3	1	1	1	1	1

Mélanger. Laisser 20 min à température ambiante.

Soude 0,4 N	10	10	10	10	10
-------------	----	----	----	----	----

Mélanger. Attendre 5 min. Photométrer.

Unités TGO/ml	0	22	55	95	150
Unités TGP/ml	0	25	50	83	126

Etablissement de la courbe d'étalonnage sur papier millimétré:

- en abscisse: nombre d'unités/ml.
- en ordonnée: densités optiques.

**- Dosage**

Pour chaque sérum, préparer les tubes suivants:

	TGO	TGP
Réactifs 1	1ML	-
Réactifs 2	-	1ML
Incuber 5 min à 37°C		
Sérum	0,2ML	0,2ML
Mélanger et mettre à 37°C	Exactement une heure	Exactement 30 minutes
Réactifs 3	1ML	1ML
Mélanger. Laisser 20 min à température ambiante.		
Soude 0,4 N	10ML	10ML

Mélanger. Attendre 5 min. Photométrer dans les mêmes conditions que la courbe d'étalonnage.

**- Stabilité de la coloration :.....1 heure**

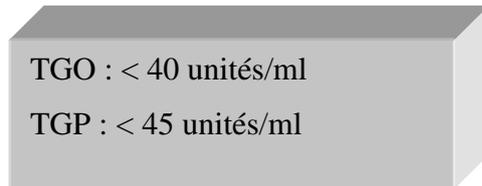
**- Résultats**

Déterminer à partir de la courbe d'étalonnage le nombre d'unités TGO et TGP par ml de sérum.

### **-Linéarité**

Pour une activité TGO > 150 unités/ml, et TGP > 125 unités/ml, refaire la détermination en diluant l'échantillon au 1/10ème dans une solution de chlorure de sodium à 9 g/l. Multiplier alors le chiffre lu sur la courbe par 10.

### **-Valeurs usuelle :**



### **I-2-2-4- dosage de l'urée**

#### **-Définition**

L'urée est un déchet azoté provenant de la dégradation des protéines par le foie, filtré par les reins et éliminé par les urines. Un taux élevé d'urée dans le sang peut être le signe d'une altération rénale.

#### **-Taux d'urée élevé dans le sang peut être le signe**

- D'une atteinte rénale
- D'un syndrome urémique
- D'une atteinte cardiaque
- D'une déshydratation

#### **-Taux d'urée bas dans le sang**

- D'une hépatite toxique
- D'une insuffisance hépatique sévère
- D'un tumeur hépatique , malnutrition....

#### **-Taux d'urée élevé dans les urines**

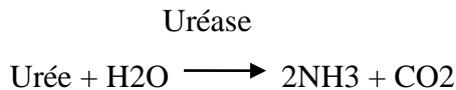
L'urée urinaire est élevée en cas d'atteintes rénales et dans toutes les situations d'hypercatabolisme ( dégradation anormalement exagérée des protéines de l'organisme).

#### **-Taux d'urée bas dans les urines**

Normalement le rapport urée urinaire/urée sanguine est supérieur à 10 . ce rapport est inférieur à 10 , on peut suspecter une insuffisance rénale organique ou un hypercatabolisme (Françoise, 2017).

## -Principe

L'urée est dosée en cinétique selon la réaction suivante :



Les ions ammonium, en présence de salicylate et d'hypochlorite de sodium réagissent en formant un composé de couleur verte (Dicarboxylindophenol) dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en urée (**Balleter et al., 1859**) ( **Mac Key et al., 1927**).

## -Réactifs

<b>Réactif 1</b> Tampon		
<b>Réactif 2</b>	EDTA	2 mmol/l
	Salicylate de sodium	60 mmol/l
	Nitroprussiate de sodium	32 mmol/l
	Uréase	30000 U/l
	Phosphate pH 6,7	60 mmol/l
<b>Réactif 3</b>	Etalon urée	0,50 g/l
		8,325 mmol/l
<b>Réactif 4</b>	Hypochlorite de sodium	40 mmol/l
10 x [ ]	Hydroxyde de sodium	150 mmol/l

(**Réf. 20141**), 450 ml d'eau distillée (**Réf. 20146**) ou (**Réf.20148**)

\_ Dissoudre le flacon R2 dans le tampon R1 : réactif A.

\_ Les réactifs de travail sont stables : 6 mois à 2-8°C.

14 Jours à 20-25°C.

## -Echantillons

Sérum, plasma recueilli sur héparine.

Urine diluée au 1/50 avec de l'eau distillée.

## -Mode opératoire

Longueur d'onde: 590 nm (578 Hg).

Température: 25-30-37°C.

Cuve: 1 cm d'épaisseur.

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif

	Blanc	Etalon	Echantillon
Etalon	-	10UL	-
Echantillon	-	-	10UL
Réactif de travail A	1ml	1ml	1ml
Mélanger, incuber 5 min. à 37° C ou 10 min. à 20-25°C. Ajouter ensuite.			
Réactif 4	1ml	1ml	1ml
Mélanger, incuber 5 min, à 37°C ou 10 min. à 20° - 25°C. Lire contre le blanc. Stabilité de la coloration 2 heures à l'abri de la lumière			

#### **-Calcul**

Urée = D.O. Echantillon/ D.O. Etalon x (n)

g/l : n = 0,50

mmol/l : n = 8,325

#### **-Linéarité**

La méthode est linéaire jusqu'à 4 g/l (66,6 mmol/l) Dans les urines, la méthode est linéaire jusqu'à 100 g/l .

#### **-Valeurs usuelles**

Sérum, plasma	0,15 - 0,40 g/l
	2,49 - 6,66 mmol/l
Urine	20-35 g/24h

### **I-2-2-5- dosage de la créatinine**

#### **-Définition**

La créatinine est un déchet métabolique normal produit par l'organisme elle est le résultat de la dégradation de la créatine, éliminée en majeure partie par les reins . Son taux dans l'organisme dépend de la capacité d'élimination rénale et de la masse musculaire.

**-Taux de créatinine élevé dans le sang peut s’observer**

- Chez les personnes souffrant d’IR (néphropathie, personnes sous dialyse).
- Chez les personnes déshydratées.
- Chez les personnes souffrant des maladies :leucémie, hyperthyroïde , hypertension artérielle et IC.
- Chez les personnes souffrant d’épuisement physique ou d’une blessure musculaire

Un taux élevé du créatinine dans le sang entraîne forcément une clairance urinaire basse. C’est pourquoi les causes d’une clairance urinaire basse sont les mêmes que celles d’un taux de créatinine dans le sang .

**-Taux de créatinine élevé dans les urines peut s’observer**

- Chez les personnes souffrant d’un diabète sucré.
- Chez les personnes souffrant d’une hypothyroïdie.

Taux de créatinine bas dans le sang peut s’observer :

- Chez les personnes souffrant d’une myopathie.
- Chez les personnes souffrant d’une maladie du foie
- Chez les femmes enceintes.

**-Taux de créatinine bas dans les urines peut s’observer :**

- Chez les personnes âgées.
- Chez les personnes souffrant d’une IR
- Dans les cas d’états de choc toxico- infectieux.
- Dans les cas de polykystose rénale (**Françoise, 2017**).

**-Principe**

La créatinine forme en milieu alcalin un complexe coloré avec l’acide picrique. La vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de créatinine (**Henry, 1984**) (**Larsen, 1972**).

**-Réactifs**

<b>Réactif 1</b>	Hydroxyde de sodium	1.6 mol/l
<b>Réactif 2</b>	Acide picrique	17.5 mmol/l
<b>Réactif 3</b>	créatinine	2 mg/dl
<b>Standard</b>		20 mg/l
		176,8 µmol/l

### **-Préparation et stabilité**

Les réactifs sont prêts à l'emploi, stables à température ambiante jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette.

Réactif de travail: mélanger à parts égales R1 et R2

Stabilité : 1 mois à 20°-25°C.

### **-Echantillons**

Sérum, plasma recueilli sur héparine.

Urine diluée au 1/20 dans l'eau distillée (tenir compte de la dilution pour le calcul).

### **-Mode opératoire**

Longueur d'onde: 492 nm (490 – 510).

Température: 25 - 30 ou 37 °C.

Cuve: 1 cm d'épaisseur.

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur l'air ou l'eau distillée.

	Standard	Echantillon
Standard	100ul	--
Echantillon	--	100ul
Réactif de travail	1ml	1ml
Mélanger et lire les densités optiques DO1 après 30 sec. Lire ensuite DO2 exactement 1 minute après.		

### **-Calcul**

Calculer  $D_{DO} = DO_2 - DO_1$  pour le standard et les échantillons.

Créatinine =  $D_{D.O} \text{ Echantillon} / D_{D.O} \text{ standard} \times n$ .

mg/dl:  $n = 2$ .

mg/l:  $n = 20$ .

$\mu\text{mol/l}$ :  $n = 176.8$ .

### **-Linéarité**

La méthode est linéaire jusqu'à 150 mg/l (15 mg/dl - 1326  $\mu\text{mol/l}$ ).

Si la concentration en créatinine est supérieure à 150 mg/l, diluer l'échantillon au 1/2 avec une solution de NaCl à 9 g/l et recommencer le test. Multiplier le résultat par 2.

**-Valeurs usuelles**

Sérum	0.7 - 1.4 mg/dl
	7-14 mg/l
	61.8 -132.6 $\mu$ mol/l
Urine	15-25 mg/kg/24h

**II-Etude statistique :**

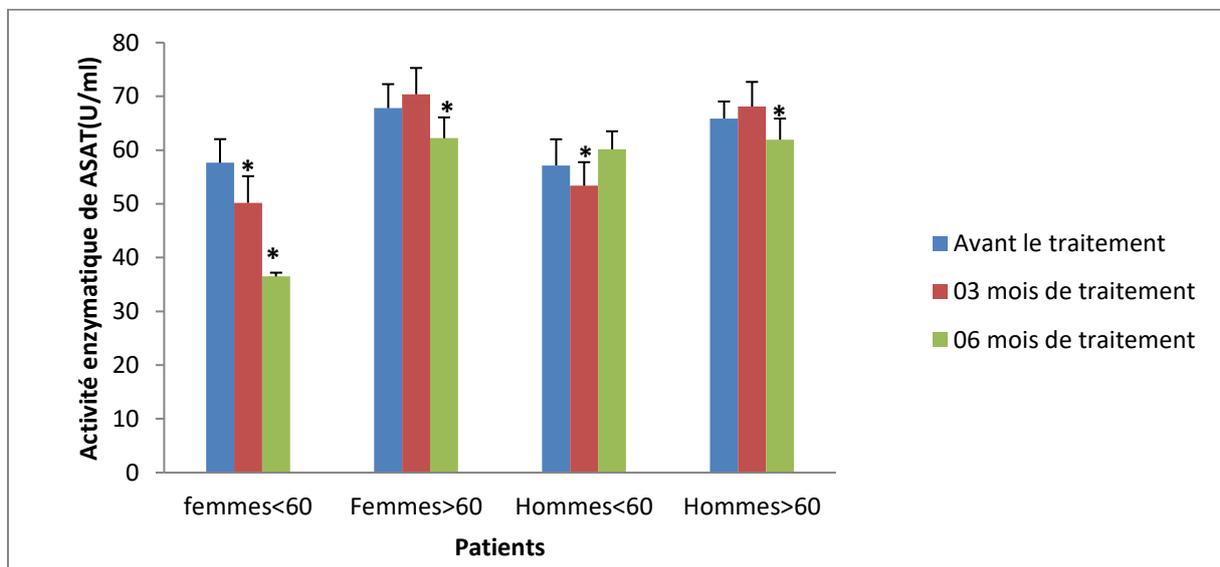
Les résultats obtenus sont exprimés au moyenne  $\pm$  ecartype et traités statistiquement par le test T de student.

## *III-Résultats :*

### III-Résultats

#### III-1-Variation de l'activité enzymatique de l'aspartate aminotransférase(ASAT /TGO)(U/ml)

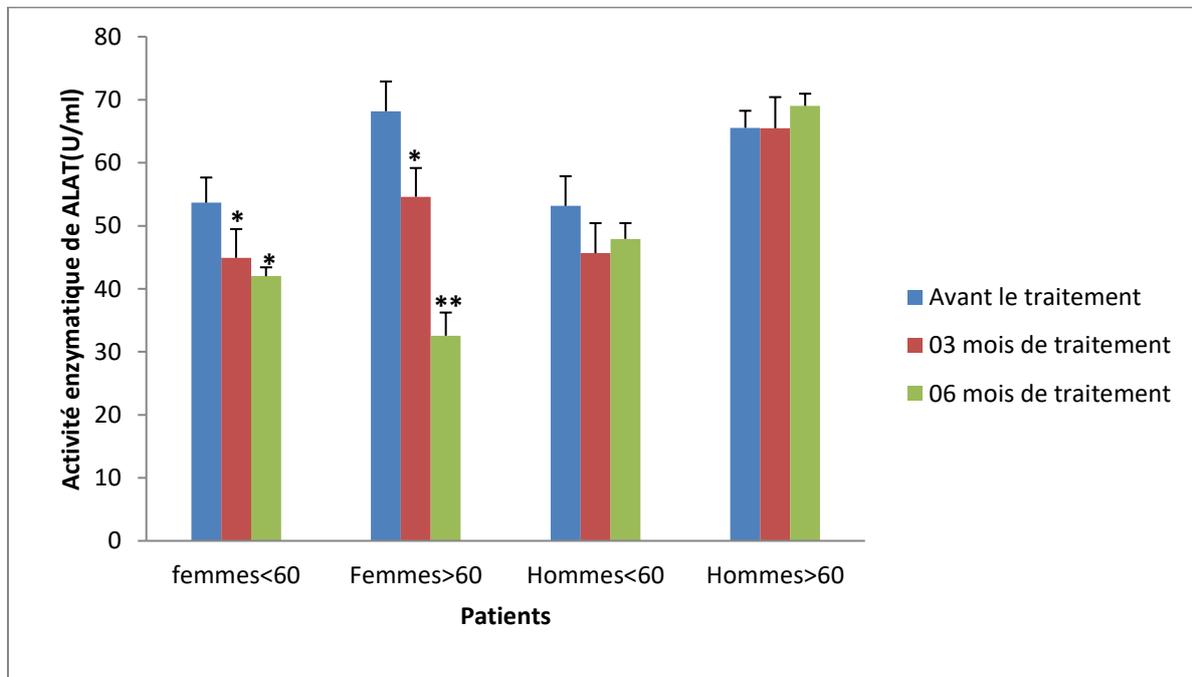
Nos résultats montrent une diminution significative de l'activité enzymatique de TGO (U/ml) chez les femmes âgées de moins de 60 ans après traitement de 03 et 06 mois par rapport à l'activité enzymatique de TGO avant le traitement. La même diminution significative est signalée chez les femmes âgées de plus de 60 ans après le traitement de 06 mois par rapport à l'activité de TGO avant le traitement. Chez les hommes âgés moins de 60 ans, l'activité enzymatique de TGO diminue significativement après de traitement de 03 mois, et diminue significativement chez les hommes plus de 60 ans après le traitement de 06 mois par rapport à l'activité enzymatique de TGO avant le traitement.



**Figure 08** : variation enzymatique de l'aspartate aminotransférase (ASAT/TGO)(U/ml)

### III-2-Variations enzymatique de l'alanine aminotransférase (ALAT/ TGP) (U/ml).

Les résultats obtenus à partir de notre étude montrent une diminution significative de l'activité enzymatique de TGP (U/ml) chez les femmes âgées de moins de 60 ans après traitement de 03 et 06 mois par rapport à l'activité enzymatique avant le traitement. La même différence significative est signalée chez les femmes de plus de 60 ans après traitement de 06 mois par rapport au résultat avant le traitement. Chez les hommes âgés de moins de 60 ans l'activité enzymatique de TGO diminue significativement après traitement de 03 mois. Cependant, cette activité a repris après 6 mois de traitement chez les hommes âgés plus de 60 ans par rapport à l'activité enzymatique de TGP avant le traitement.



**Figure 09 :** variation de l'activité enzymatique de l'alanine aminotransférase (ALAT/TGP)(U/ml)

### III- 3- Variation de l'activité enzymatique de phosphatases alcalines (PLT )(U/l)

Concernant l'activité enzymatique du (PLT) (U/l), nos résultats signalent qu'il y'a une diminution significative chez les femmes âgées de moins de 60 ans après 03 et 06 mois de traitement par a rapport à celles avant le traitement. Cette diminution est signalée aussi chez les femmes âgées plus de 60 ans après 06 mois de traitement. Chez les hommes âgés de moins de 60 ans , l'activité enzymatique de (PLT) diminue significativement après traitement de 03 mois .et diminue significativement chez les hommes âgés plus de 60 ans après 06 mois de traitement par a rapport aux résultats avant le traitement.

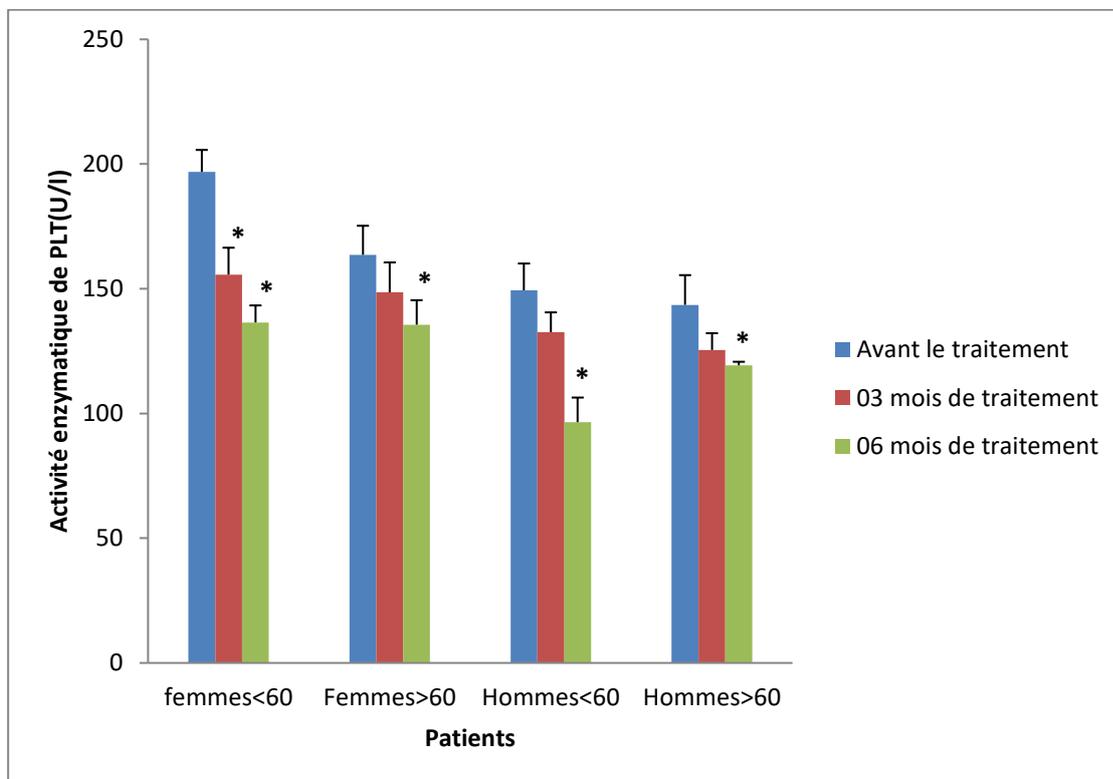
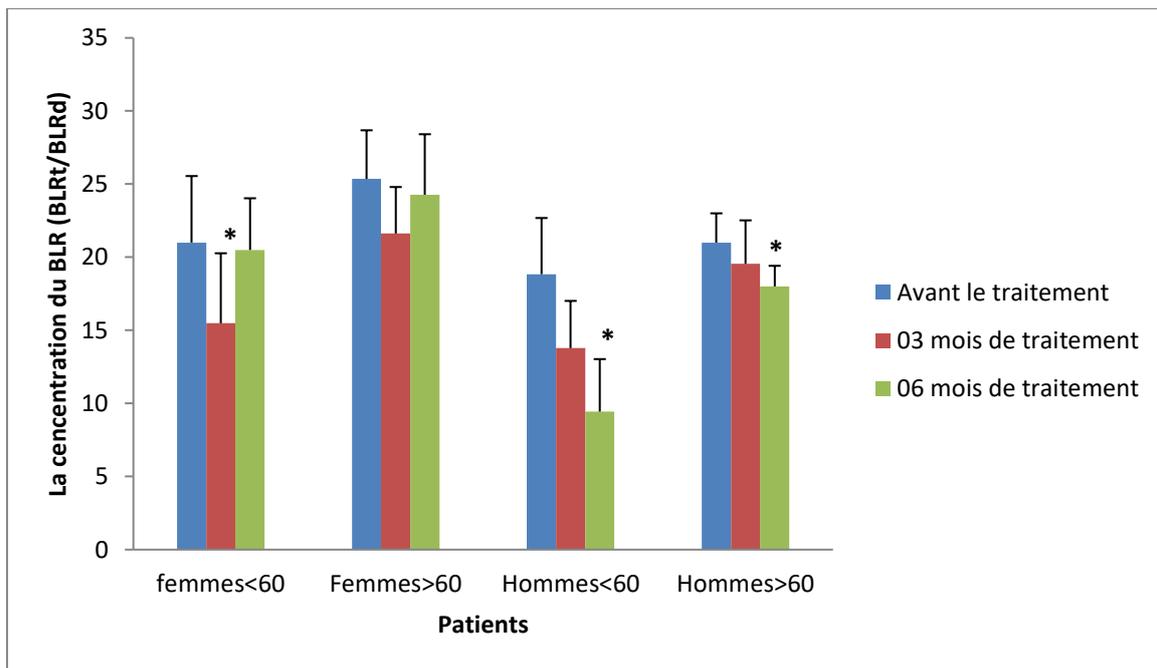


Figure 10 : variation enzymatique de phosphatases alcalines (PLT) U/L

### III-4-Variation de la concentration de la bilirubine totale et directe (BLRt /BLRd)

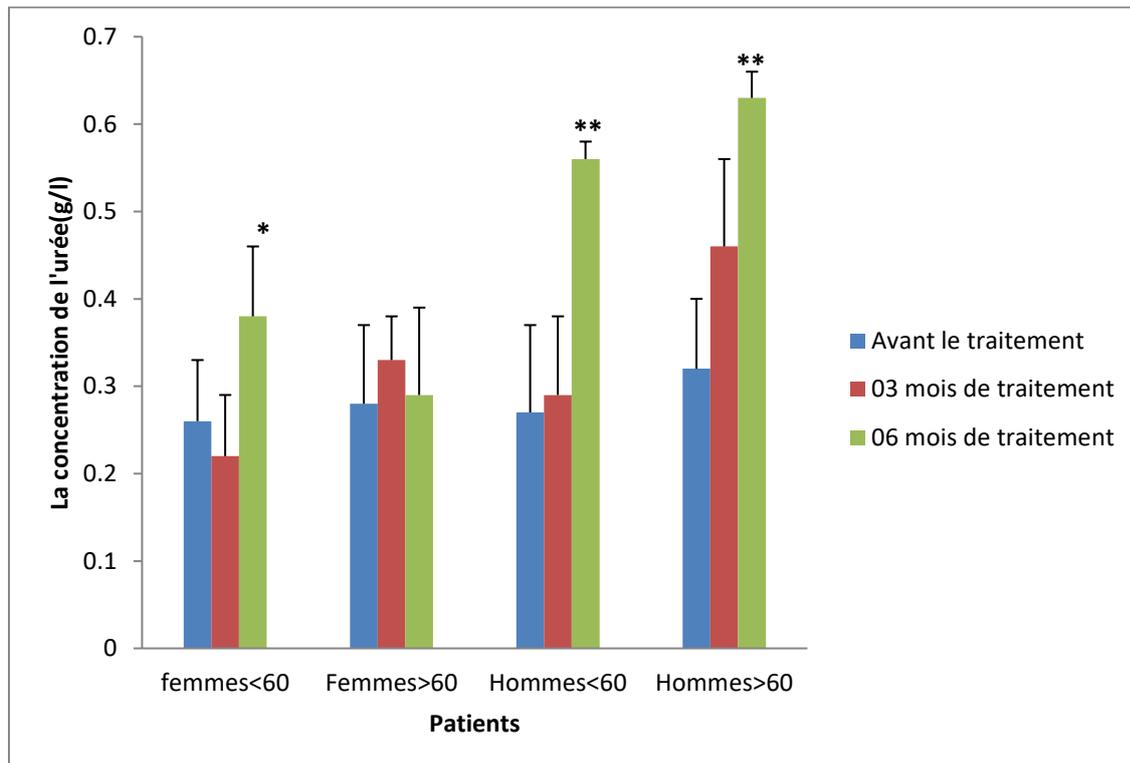
Les résultats obtenus à partir de notre étude montrent une diminution significative de la concentration de (BLRt et BLRd) (mg /l) chez les femmes âgées de moins de 60 ans après traitement de 03 par a rapport aux concentrations avant le traitement. Même différence significative est signalée chez les femmes âgées plus de 60 ans après 3 mois du traitement. Chez les hommes âgés de moins de 60 ans et plus de 60 ans la concentration de la (BLRt /BLRd). diminue significativement après 06 mois de traitement par a rapport aux résultats avant le traitement.



**Figure 11:** variation de la concentration de bilirubine totale et directe (BLRt/BLRd)(mg/L).

### III-5- variation de la concentration de l'urée ( g/L).

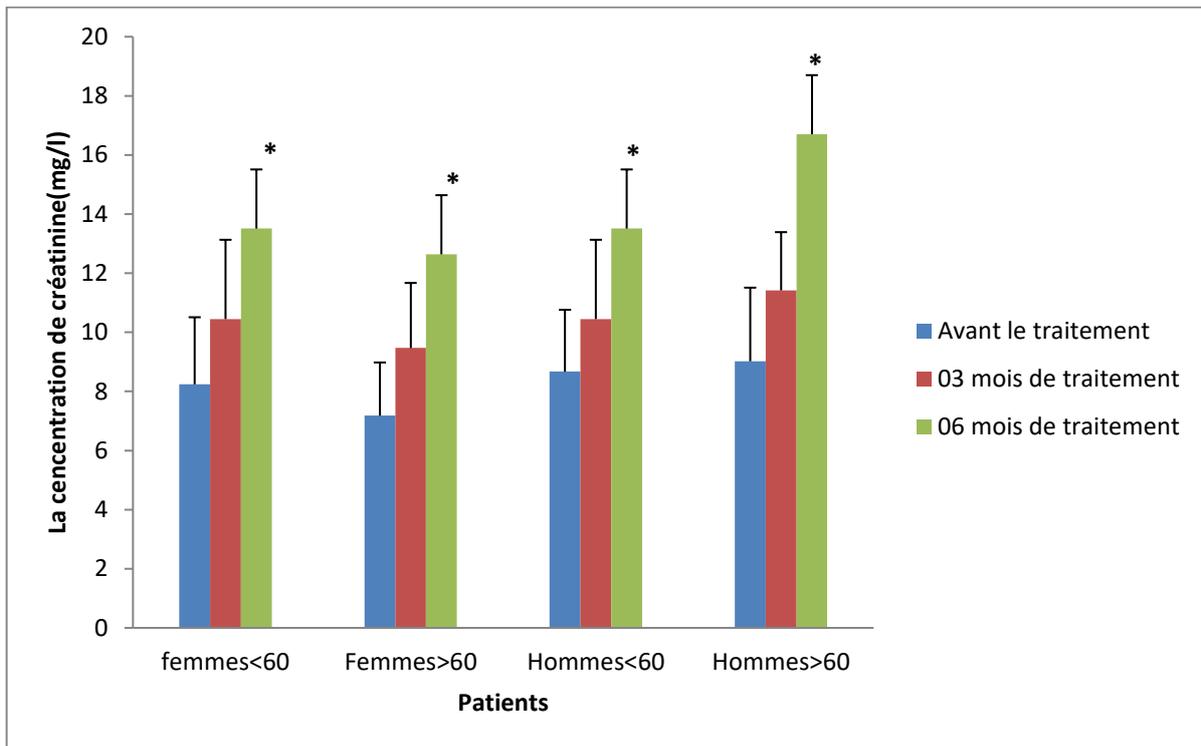
Les résultats obtenus montre qu'il ya une augmentation significative de la concentration de l'urée ( g/l) chez les femmes âgées de moins de 60 ans après 06 mois de traitement par a rapport a la concentrations avant le traitement . .Chez les hommes âgés moins de 60 ans et plus la concentration de l'urée augmente significativement après 06 mois de traitement par a rapport à celle avant le traitement.



**Figure 12** : variation de la concentration de l'urée (g/L).

### III-6-variation de la concentration de la créatinine (mg/L)

Concernant la concentration de la créatinine ( mg / l) ,nos résultats signalent une augmentations significative chez les femmes âgées moins de 60 ans et plus de 60 ans après 06 mois de traitement par a rapport à celles avant le traitement. . Chez les hommes âgés moins de 60 ans et plus de 60 ans, la concentration de créatinine augmente significativement après 06 mois de traitement par a rapport à la concentration avant le traitement.



**Figure 13 :** variation de la concentration de créatinine (mg/L).

# *Discussion*

## **Discussion et analyses des résultats**

### **I-Effet de Sofosbuvir 400 mg sur le foie (bilan hépatique)**

**Le foie** joue un rôle majeur dans le métabolisme des molécules endogènes et exogènes. Ce rôle est assuré par des enzymes et molécules hépatiques spécifiques tels que les transaminases, la phosphatase alcaline, la bilirubine... .

Ces molécules fonctionnelles sont des marqueurs hépatiques et leur perturbation quantitative témoigne d'une altération structurale et fonctionnelle du foie.

**Les transaminases (ASAT et ALAT) (U/ml)** sont des enzymes présentes à l'intérieur des cellules, en particulier au niveau du foie et des muscles. Sont des enzymes essentielles de l'organisme. Leur rôle est de permettre le transfert d'amines lors de processus chimiques liés au foie et au cœur. **(Benhamou, 2002).**

**Les phosphatases Alcalines (Pal)(U/l)** Les phosphatases alcalines (PAL) sont des enzymes qui se trouvent dans la plupart des tissus de l'organisme, en particulier les os, le foie, l'intestin, les reins, etc. Elles sont aussi présentes dans le placenta au cours de grossesse **(Iglesias, 2017).**

La phosphatase alcaline est une enzyme/une protéine qui accélère certaines réactions chimiques dans l'organisme .Elle est, en effet, essentielle à la minéralisation de l'os..**(Fraser et al., 2005).**

**La bilirubine (BLRt/BLRd)(mg/l)** La bilirubine est un pigment non soluble dans l'eau de couleur jaune, issu de la dégradation de l'hémoglobine. Elle est le principal colorant de la bile. Elle est produit dans les cellules de la rate et de la moelle osseuse, et est ensuite transportée dans la circulation sanguine par l'albumine pour rejoindre le foie **(David, 2017).**

Ces enzymes et ces molécules présentent un déséquilibre au niveau de leur activités dans les cas des infections virales, notamment l'hépatite C .comme ce qui est démontré dans nos résultats qui montrent une diminution significative dans les activités enzymatiques des transaminases et la phosphatase alcaline associée à la réduction de la concentration des bilirubines suite au traitement par le sofosbuvir.

L'Augmentation de (ALAT/ASAT)(U/ml) témoigne une lésion cellulaire dans le foie ver la destruction cellulaire à cause de la présence d'une hépatite virale infectieuse**(Lehn, 2015)**

L'augmentation signe d'une cholestase intra-hépatique (hépatite cholestatique) , stéatose, cirrhose, hépatomes....(Iglesias, 2017)

L'augmentation du bilirubine totale et directe(BLRt/BLRd)(mg/l) peut être le signe d'une constriction biliaire (hépatite développée) ou une cirrhose du foie et/ou toutes anomalies hépatiques(Della Valle, 2019)

D'après les résultats obtenus et suite aux traitement par le sofosbuvir 400mg , un inhibiteur de l'ARN polymérase NS5B, dans une période de 03 à 06 mois on a constaté que l'activité enzymatique des transaminases (ALAT/ASAT)(U/ml) et de la phosphatases alcalines (PLT)(U/l) ainsi que la concentration de la bilirubine (BLR)(mg/l) subit une diminution significative . Cette dernière est expliquée par l'effet du sofosbuvir sur le foie qui bloque directement ou réduit la capacité du virus de l'hépatite C de se multiplier au niveau hépatique. Il empêche la reproduction du matériel génétique de ce virus., ces résultats montrent bien que ce médicament permet de restaurer de façon significative la fonction hépatique(Gilead sciences, 2019)

Donc toute perturbation des marqueurs hépatiques témoigne des dommages structurales et fonctionnelle qui s'améliorent sous l'effet de Sofosbuvir.

## **II-Effet de Sofosbuvir 400 mg sur les reins (bilan rénale)**

Les reins sont des organes vitaux responsables de l'homéostasie du milieu intérieur. Ces organes assurent la filtration du sang et l'évacuation via l'urine des déchets du corps.(Christian et al., 2020) .

Le dysfonctionnement rénal est évalué par le dosage de plusieurs marqueurs rénaux, comme l'urée et la créatinine.

L'urée est le produit terminal de la dégradation des protéines .Elle est produit par le foie, Elle ensuite éliminée par le rein . L'urée joue un rôle important dans le métabolisme des composés azotés ( Levey et al., 2005).

La créatinine est un produit de la dégradation de la créatine des muscles squelettique. Il est essentiellement éliminé par voie rénale par filtration glomérulaire ( Levey et al., 2005).

Nos résultats concernant ces paramètres rénaux indiquent une augmentation significative qui témoigne d'une altération de la fonction rénale.

Donc, c'est parmi les facteurs qui causent ce trouble c'est la prise du médicaments (Le sofosbuvir)

Nos résultats montrent une diminution significative de la concentration de l'urée (g/l), et de la créatinine (mg/l) chez les deux sexes de moins de 60 ans et plus de 60 ans au niveau rénale lors d'une atteinte par l'hépatite c virale.

Des résultats similaires sont rapportés par ( **Mareen, 2020**) qui a démontré une augmentation de la concentration de l'urée et de créatinine surtout après 03 et 06 mois de traitement par le sofosbuvir 400 mg chez les femmes et les hommes âgés .

En cas d'affection hépatique , la concentration de l'urée va baisser en terme que l'urée est synthétisée par le foie. La mesure de la concentration en urée est peut utile dans le cas de nombreuses maladies (hépatiques) sans anomalie de sa fonction, c'est-à-dire toutes altérations hépatiques influent le taux d'urée(**Wendon, 2013**)

Aussi la gravité de l'infection par le virus de l'hépatite c est liée à des manifestations extra-hépatiques généralement au niveau des reins , une maladie du foie peut expliquer un résultats bas de créatinine (**Wang, 2013**)

suite aux traitement par le sofosbuvir 400mg (inhibiteur de l'ARN polymérase NS5B) dans une période de 03 à 06 mois on estime que la concentration de l'urée (g/l) et la concentration de créatinine (mg/l) subit une augmentation significative qui est expliquée par l'effet toxique du sofosbuvir sur les reins , le taux élevé de l'urée et de la créatinine suggère généralement un mauvais fonctionnement des reins (souvent les deux reins) aigue ou chronique voire une insuffisance rénale . cette élévation peut être attribuable à une condition qui réduit le flux de sang dans les reins (**Bernal et al., 2013**)

# *Conclusion*

## Conclusion

L'hépatite chronique C est un problème majeur de la sante publique. C'est une épidémie « silencieuse » par ses formes asymptomatiques fréquentes. C'est une maladie grave car elle évolue vers la chronicité dans 80 % des cas et est responsable decirrhose et de cancer hépatique.

C'est une maladie dont on peut guérir aujourd'hui. Des médicaments antiviraux de plus enplus efficaces sont disponibles.Malgré les recherches en cours, il n'y a pas encore de vaccin pour la prévention de l'infection par le VH C.

Notre travail vise à étudier l'effet thérapeutique et toxique de médicament ( Sofosbuvir 400 mg) sur le foie et les reins ,à partir du suivie des variations de l'activité de quelques enzymes hépatiques et marqueurs rénaux avant et pendant le traitement (du 03 à 06 mois) chez les patients de l'hépatite C .

Les Résultats obtenus montrent que le traitement des malades par le sofosbuvir pendant 3 à 6 mois a :

Un effet thérapeutique sur le foie représenté par la diminution significative de l'activité de quelques enzymes hépatiques :

- Diminution de l'activité enzymatique des transaminases(ALAT/ASAT)(U/ml)
- Diminution de l'activité enzymatique de phosphatase alcaline (PLT)(U/l)
- Diminution de la concentration de la Bilirubine Totale et direct ( BLRt et BLRd)(mg/l)

Un effet toxique sur les Reins qui se traduit par un dysfonctionnement des reins expliqué par :

- Augmentation de la concentration de l'urée(g/l)
- Augmentation de la concentration de la créatinine(mg/l)

*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

### A

- 1) **AJ Weiner, LR Overby, DW Bradley, M Houghton.,1989:** Isolation of a c DNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* ;244:359–62.
- 2) **Alter, H. J., Seef, LB.,2000 :**Recovery , persistence and sequelae in hepatitis c virus infection :a perspective on long- term outcome .*semin liver dis*;30:1735.

### B

- 3) **Balleter, W.G., Bushaman, C.S., Tidwell, P.W.,2003: Anal. Chim. 33,59**
- 4) **Bernal w , wendon J, Engl N , Med J.,2013 Dec:** Acute liver failure ..26;369(26)/2525-34
- 5) **Berthelot, M.P.E.,1959: Report Chim. Appl. 284**
- 6) **Bianchi.V ,S.el anbassi ,duployez N., 2013 :** BACTERIOLOGIE VIROLOGIE bibliothèque nationale, paris 167 169BI ISBN : 978-2-8041-8179-6 *Biol Chem*, 278(42): p. 40503-13.
- 7) **Buisson Y, Coursaget R, Van Cuyck-Gandre H., 1974 :** Le diagnostic des hépatites virales transmises par voie féco-orale. *Méd Mal Infect* ; 24: 604-609.

### C

- 8) **Chams V, Fournier-Wirth C,Chabanel A, Hervé P, Trépo C., 2003:** Le virus GB-C ou virus « dit » de l'hépatite G est-il impliqué en pathologie humaine *Transfusion Clinique et Biologique* ; 10: 292–306.
- 9) **Chevaliez S, Pawolovsky JM., 2005.** Dépistage et diagnostic des hépatites B et C. *Rev Prat* ; 55 : 615-623.
- 10) **Choo,Q.L.,Weiner,A .J.,overby,L. R.,kou,G .,houghton,M and bradley ,D.W.(1990):** hepatitis c virus:the major causative agent of viral non –A, non-B hepatitis .*Br Med Bull*46(2),423-41.
- 11) **Colin C, Lanoir D, Touzet S et al., 2003 :** Sensitivity and specificity of third generation hepatitis C

### D

- 12) **D.GUYADER, C.LEFEUVRE., 1998.** Epidémiologie de l'infection virale C chez 1304 sujets VHC positif.*Gastroentérol Clin Biol*, 22
- 13) **Dhumeaux D, Aknike, Chazouillères., 2014 .** Prise en charge des personnes infectées par les virus de l'hépatite B ou de l'hépatite C. Dhumeaux D, Pawlotsky J-M., 2004. Hépatite C. EDK Editions; 480 p.
- 14) **Dominique Bettinger., 17avril 2004.** Laboratoire de Virologie CHU Saint Jacques Besançon, Virus de l'hépatite C, 10.

### F

- 15) **Fattovich G, Giustina G, Degos F, Tremolada F, Diodati G, Almasio P, Nevens E, Solinas A,Mura D, Brouwer JT, Thomas H, Njapoum C, Casarin C, Bonetti P,**

**Fuschi P, Basho J, Tocco A, Bhalla A, Galassini R, Noventa F, Schalm SW, Realdi G., 1997.** Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective followup study of 384 patients. *Gastroenterology* ; 112: 463-72.

**16) Feld JJ, Moreno C, Trinh R, Tam E, Bourgeois S, Horsmans Y, Elkhatab M, et al. 2015.** Sustained virologic response of 100% in HCV genotype 1b patients with cirrhosis receiving ombitasvir/ paritaprevir/r and dasabuvir for 12 weeks. *J Hepatol* .

**17) Food and Drug Administration., 2013.** Sofosbuvir's cost. \*cited 2015 Jun 1]; Available from:

## **G**

**18) Gareil., 1997.** M:épidémiologie de l'hépatite C compétence médicale num 23.

**19) Gastroenterol. Clin .Biol., 25:1011-1015**

**20) GERMI R., CRANCE J.M., GARIN D., and al., 2001.** Les récepteurs du virus de

**21) Gilead. (2013).** European Medicines Agency, Summary on compassionate use for Sofosbuvir. [En ligne]..

**22) Gisbert JP, García-Buey L, Pajares JM, Moreno-Otero R., 2015.** Systematic review: regression of lymphoproliferative disorders after treatment for hepatitis C infection. *Aliment Pharmacol Ther*;21(6):653–62.

**23) Guide pratique des analyses médicale de Pascal Dieusaert-5ème édition – Edition Malonie –Mai 2009**

**24) Guide pratique des analyses médicale de Pascal Dieusaert-6ème édition – Edition Malonie –Avril 2015**

## **H**

**25) Handra-Luca A, Tengher L, Ziol M., 2007.** Aspects Histopathologiques des Infections à Virus Hépatotropes. *Revue Francophone des Laboratoires* ; 388 : 41-48.

**26) Haussamen T.U. et al. Clin. Chim., 1977.** Acta. 35, 271-273 .

**27) Henry J.B., 1984.** Clinical Diagnosis and management 17<sup>th</sup> édition, Saunders Publisher hepatitis C

**28) Hijmans Van den Bergh A.A., Muller P., 1916.** *Biochem*, 77, 90 .

## **I**

**29) International Journal of Antimicrobial Agents 2003 ; 21 : 143-152.**

## **J**

30) **Jornal Officiel, 1997**

## K

- 31) **Karmochkine., 1998.** modes de transmission du virus d'hépatite C.
- 32) **Khuroo M S.,2003.** Viral hepatitis in international travellers: risks and prevention  
,International Journal of Antimicrobial Agents ; 21 : 143-152.
- 33) **Kuiken, C., C. Combet, et al., 2006.**"A comprehensive system for consistent numbering of HCV sequences,proteins and epitopes."Hepatology. 44(5):1355-61.
- 34) **Kwo P, GitlinN, Nahass R, Bernstein D, Rojter S, Schiff E, Davis M, et al. A phase-3, randomised, open-label study to evaluate the efficacy and safety of 8 and 12 weeks of**

## L

- 35) **Lam AM, Murakami E, Espiritu C, Steuer HMM, Niu C, Keilman M, et al.,2010.** PSI-7851, a Pronucleotide of b-d-2'-Deoxy-2'-Fluoro-2'-C-Methyluridine Monophosphate, Is a Potent and Pan-Genotype Inhibitor of Hepatitis C Virus Replication. Antimicrob Agents Chemother;54(8):3187-96.
- 36) **Lanford, R.E., Hildebrandt-Eriksen, E.S., Petri, A., Persson, R., Lindow, M., Munk, Larsen K., Clin. Chim.,1997.** Acta 66, 209 .
- 37) **Lawitz, E., M. Rodriguez-Torres, et J. Denning., (2011).** Once daily dual-nucleotide
- 38) **Leroy V, Angus P, Bronowicki J, Dore G, Hezode C, Pianko S, Pol S, et al. All-Oral**
- 39) **Loudot-Thoraval F, Bastié A, Pawlotsky JM, Dhumeaux D ., 1997.**and the study group for the prevalence and the epidemiology of hepatitis C Virus. Epidemiological factors affecting the severity of hepatitis C virus-related liver disease: a French survey of 6 664 patients.Hepatology ; 26: 485-90 .
- 40) **LR Overby, DW Bradley, M Houghton.,1989. Isolation** of a c DNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. Science ;244:359-62.
- 41) **Lunel F, Mariotti M, Cresta P et al., 1995.** Comparative study of conventionnal and

## M

- 42) **M Houghton.,1989.** Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. Science ;244:359-62.
- 43) **Mac Key, E.M., Rackeyll, J. Clin. Invest, J.,1927.** Clin.Invest. 4, 295

- 44) Mammette., 2002.** virologie médicale .presses universitaires de Lyon , 338.
- 45) Marie-Francoise Odou., Avril 2015.** Guide pratique des analyses médicale de Pascal Dieusaert-6ème édition – Edition Malonie
- 46) Michel vauboudrolle., 2013.**infectiologie édition woters kluwer SA,paris587- N Engl J Med, Vol. 345, No. 1 · July 5, 2001.
- 47) Moradpour, D., F. Penin, et al.,2007.**"Replication of hepatitis C virus."Nat Rev Microbiol . 5(6): 453-63.

## N

- 48) Naveau S ,A.balian ,PerlemuterG.,2003.** hépato-gasrtro-entérologie .masson, paris , 94-96.
- 49) Nelson DR, Cooper JN, Lalezari JP, Lawitz E, Pockros PJ, Gitlin N, Freilich BF, et al,2015.** All-oral 12-week treatment with daclatasvir plus sofosbuvir in patients with hepatitis C virus genotype 3 infection: ALLY-3 phase III study. Hepatology;61:1127-35.
- 50) Novel strategies for the detection of hepatitis C virus RNA in serum: amplicor, branched-DNA, NASBA and in house PCR. J Virol Methods ;54:159-71.**

## O

- 51) Olivier Lortholary ; Claudine ; P., Lippens, G., Neyts, J., (2010).** duviver processus inflmatoire et infectieux ., elsevier masson rue gamille-desmoulin SAS, 105DEB025 (Alisporivir) inhibits hepatitis C virus replication by preventing a cyclophilin A induced cis-trans isomerisation in domain II of NS5A. PloS one 5, e13687.

## P

- 52) Pawlotsky JM, Dhumeaux D. Hépatite C.,2004.** Paris : EDK, 479 p.
- 53) Penin, F., J. Dubuisson, et al.,2004.**"Structural biology of hepatitis C vrus. Hepatology 39(1): 5-19.primates with chronic hepatitis C virus infection. Science 327, 198-201.

## R

- 54) Responsible for the expression of the HCV ARFP/F/core+1 coding open reading frame. J Biol Chem, 278(42): p. 40503-13.**

## S

- 55) Saadi Berkane, French luncheon.,2012.** comment prendre en charge les patients atteints SANITAIRE DE L'HEPATITE C AU MAROC (MODELISATION PREVISIONNELLE ;14. Simeprevir (SMV) plus Sofosbuvir (SOF) in treatment-naive and -experienced patients
- 56) Stratégie mondiale du secteur de la santé contre l'hépatite virale,2016-2021** sujets VHC positif.Gastroentérol Clin Biol, 1998, 22
- 57) Sulkowski MS, Shiffman ML, Afdhal NH, Reddy KR, McCone J, Lee WM, et al.,2010.** Hepatitis C virus treatment-related anemia is associated with higher sustained virologic response rate. Gastroenterology;139(5):1602–11, 1611.e1.

## T

- 58) Takahashi M, Yamada G, Miyamoto R, Doi T, Endo H, Tsuji T.,1993.** Natural course of chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* ; 14: 969-74
- 59) Terrault N, Zeuzem S, di Bisceglie AM, Lim J, Pockros P, Frazier L, Kuo A, et al.,2015.** Treatment outcomes with 8, 12 and 24 weeks regimens of ledipasvir/sofosbuvir for the treatment of hepatitis C infection : analysis of a multicenter prospective, observational study. *Hepatology*;62 (Suppl 1):256A.
- 60) Thélot B, Pialoux G, Delhommeau A, Piroth L, Salmon-Ceron D et l'APPIT.,2000.** Epidémiologie hospitalière des patients co-infectés par le VIH et le VHC. *BEH* ; 39: 171-3.
- 61) Thio CL, Nolt KR, Astemborski J et al.,1993.** Screening for hepatitis C virus in human Watanabe J, Matsumoto C, Shimada T et al. Predictive value of screening tests for persistent hepatitis C virus infection evidenced by viremia. *Vox Sang* ;65:199-203.
- 62) TOUZANI SOUMAYA.,2003.** Thèse N°016/12, ESTIMATION DE L'IMPACT

## V

- 63) Vassilaki, N. and P. Mavromara (2003).** Two alternative translation mechanisms are
- 64) Vassilaki, N., P. Friebe, (2008).** "Role of the hepatitis C virus core+1 open reading frame and core cis-acting RNA elements in viral RNA translation and replication." *J Virol* 82(23): 11503-15.
- 65) Virola.,2012.** hépato gastéro entérologie,paris ,586

## W

- 66) Walters M.L., Gerarde R.W.,1970.** *Microchem* 15, 231 .

## Y

67) Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, Herring RW, Jr., Ratziu V, Ding X, Wang J, *et al.*,1997.

**Webographie :**

68) [http://.images.google.fr?imgurl=http:dicos.ens-lyon.fr/vie/images/V05\\_2H1\\_Hepatite](http://.images.google.fr?imgurl=http:dicos.ens-lyon.fr/vie/images/V05_2H1_Hepatite)

69) <http://fr.m.wikipedia.org>

70) <http://fr.slideshare.net>

71) <http://slidplayer.fr>

72) [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Other/2013/12/WC50015682](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Other/2013/12/WC50015682)

73) <http://www.hepatitisc.uw.edu/page/treatment/drugs/sofosbuvir-drug>

74) [http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Rapport Prise en charge Hepatites 2014.pdf](http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Rapport_Prise_en_charge_Hepatites_2014.pdf)

75) <https://fr.m.wikipedia.org>

76) <https://fr.slideshare.net>

77) <https://www.passeportsante.net>

78) <https://www.revmed.ch>

79) <https://www.who.int>

80) [www.chups.jussieu.fr](http://www.chups.jussieu.fr)

# *Annexes*

## Annexes

**Tableau n°04 :** variation de l'activité enzymatique de l'aspartate aminotransférase (ASAT/TGO) U/ml

Activité enzymatique	L'activité enzymatique du aspartate aminotransférase(ASAT)(U/ml)		
	Avant le traitement	03 mois de traitement	06 mois de traitement
Patients			
<b>Femmes&lt;60</b>	57,64±4,4	50,19±4,96	36,5±0,70
<b>Femme&gt;60</b>	67,81±4,46	70,38±4,90	62,22±3,87
<b>Hommes&lt;60</b>	57,15±4,87	53,38±4,38	60,14±3,36
<b>Hommes&gt;60</b>	65,88±3,17	68,11±4,58	61,94±3,93

**Tableau n°05 :** variation enzymatique de l'alanine aminotransférase(ALAT/TGP) U/ml

Activité enzymatique	L'activité enzymatique de l'alanine aminotransférase( ALAT)(U/ml)		
	Avant le traitement	03 mois de traitement	06 mois de traitement
Patients			
<b>Femmes&lt;60</b>	53,66±4	44,92±4,56	42±1,41
<b>Femme&gt;60</b>	68,18±4,72	54,6±4,57	32,55±3,68
<b>Hommes&lt;60</b>	53,15±4,72	45,66±4,76	47,92±2,5
<b>Hommes&gt;60</b>	65,55±2,77	65,47±4,95	69,03±1,93

**Tableau n°06 :** variation enzymatique de phosphatases alcalines (PLT ) U/L

Act enzymatique	L'activité enzymatique de phosphatases alcalines (PLT)(U/L)		
	Avant le traitement	03 mois de traitement	06 mois de traitement
Patients			
<b>Patients</b>			
<b>Femmes&lt;60</b>	196,88±8,78	155,7±10,76	136,5±6,83
<b>Femme&gt;60</b>	163,63±11,63	148,57±11,99	135,61±9,81
<b>Hommes&lt;60</b>	149,38±10,75	132,61±7,93	96,55±9,83
<b>Hommes&gt;60</b>	143,55±11,91	125,48±6,7	119,33±1,41

**Tableau n°07** : variation de la concentration de bilirubine totale et directe (BLRt/BLRd).  
mg/L

concentration Patients	La concentration de bilirubine totale et direct (BLRt/BLRd)(mg/L)		
	Avant le traitement	03 mois de traitement	06 mois de traitement
<b>Femmes&lt;60</b>	21±4,55	15,48±4,79	20,5±3,53
<b>Femme&gt;60</b>	25,36±3,32	21,62±3,18	24,27±4,14
<b>Hommes&lt;60</b>	18,84±3,84	13,78±3,23	9,44±3,59
<b>Hommes&gt;60</b>	21±2	19,55±2,97	18±1,41

**Tableau n°08** : variation de la concentration de l'urée . g/L

concentration Patients	La concentration de l'urée (g/L)		
	Avant le traitement	03 mois de traitement	06 mois de traitement
<b>Femmes&lt;60</b>	0,26±0,07	0,22±0,07	0,38±0,08
<b>Femme&gt;60</b>	0,28±0,09	0,33±0,05	0,29±0,1
<b>Hommes&lt;60</b>	0,27±0,1	0,29±0,09	0,56±0,02
<b>Hommes&gt;60</b>	0,32±0,08	0,46±0,1	0,63±0,03

**Tableau n°09** : variation de la concentration de créatinine .mg/L

concentration Patients	concentration de créatinine(mg/L)		
	Avant le traitement	03 mois de traitement	06 mois de traitement
<b>Femmes&lt;60</b>	8,24±2,27	10,45±2,68	13,51±1,58
<b>Femme&gt;60</b>	7,18±1,8	9,47±2,2	12,64±2,1
<b>Hommes&lt;60</b>	8,67±2,09	10,45±2,68	13,51±1,5
<b>Hommes&gt;60</b>	9,02±2,49	11,42±1,97	16,70±0,9