



a 66316

*Malakia - Therapies - Pali
Chromatographie, G.S*

INDEXED

DETERMINATION DE LA CHLOROQUINE DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES
PAR CHROMATOGRAPHIE GAZEUSE
SON INTERET DANS LE CONTROLE DES EXPERIENCES DE CHIMIOThERAPIE DE MASSE

par

A. Viala,¹ M. Estadiou,¹ A. Durand,¹ J. P. Cano,¹
A. Rougemont² et J. Delmont²

1. INTRODUCTION

Pour rechercher et doser la chloroquine dans les milieux biologiques, nous avons mis à profit au cours de précédents travaux (Viala et al., 1972, 1973a, b, 1975; Durand, 1974) plusieurs types de techniques :

- a) la chromatographie sur couche mince qui s'emploie surtout à des fins qualitatives;
- b) la spectrophotométrie dans l'ultraviolet qui conduit rapidement à l'identification et au dosage, mais manque de sensibilité;
- c) la spectrofluorimétrie qui est plus sensible mais peut se trouver en défaut sur le plan de la sélectivité;
- d) la chromatographie gazeuse avec étalonnage interne et détection par ionisation de flamme classique, qui, d'une sensibilité équivalente à celle de la spectrofluorimétrie, a l'avantage de fournir en une seule opération un résultat à la fois qualitatif et quantitatif.

Ces procédés se sont avérés très satisfaisants pour poser le diagnostic d'intoxications ou de surdosages à la chloroquine ou pour en établir le pronostic. Mais, pour réaliser des études pharmacocinétiques ou pour effectuer des contrôles thérapeutiques, il est nécessaire que la sensibilité et la spécificité des techniques mises en oeuvre soient encore plus grandes. D'après nos observations antérieures, nous pouvions considérer la chromatographie en phase gazeuse comme répondant le mieux à ces préoccupations analytiques. Nous avons donc cherché à en améliorer les performances en portant plus particulièrement notre attention sur les conditions de la détection chromatographique et de l'étalonnage interne.

2. METHODE

La méthode que nous avons mise au point, dont le détail sera publié par ailleurs, comporte les opérations suivantes : la chloroquine, éventuellement libérée de ses liaisons protéiques par chauffage de l'échantillon biologique en présence de potasse, est extraite par l'éther; l'extractif étheré, additionné de l'étalon interne, est évaporé et le résidu, repris par un solvant

¹ Laboratoire de Toxicologie générale et de Biotoxicologie, Faculté de Pharmacie, 13005 Marseille, France.

² UER de Médecine et de Santé tropicale, Hôpital Félix Houphouët-Boigny, 13015 Marseille, France.

approprié, est analysé au moyen d'un chromatographe équipé d'un système de détection sélectif des molécules azotées. En jouant sur les volumes de la prise d'essai et du solvant de reprise du résidu terminal, on peut atteindre, pour un dosage précis, une sensibilité de l'ordre de 30 à 40 ng par ml ou par g d'échantillon biologique.

3. RESULTATS

Dans un premier temps, cette technique a été appliquée à la détermination de la chloroquine sérique au cours d'une expérience d'autotraitement du paludisme chez des adultes en milieu traditionnel africain. Le tableau 1 montre la distribution des taux sériques (en ng/ml) de chloroquine trouvés chez 95 adultes d'un village hyperendémique en zone de savane soudanienne (région de Bamako, Mali). Tous les adultes du village en question avaient été priés de prendre durant un an en une prise hebdomadaire de 3 comprimés à 100 mg de sulfate de chloroquine (Nivaquine[®]), sans contrôle de la prise du médicament. Le but était de tester certaines hypothèses concernant la décroissance des titres en anticorps fluorescents spécifiques (Quilici et al., 1975; Picq et al., 1976) et les modifications survenues dans la concentration sérique de certaines autres protéines, en particulier l'haptoglobine (Rougemont et al., 1977). Les prélèvements ont été faits "par surprise" un an après le début de l'expérience.

TABLEAU 1. DISTRIBUTION DES TAUX SERIQUES DE CHLOROQUINE TROUVES CHEZ 95 ADULTES D'UN VILLAGE HYPERENDEMIQUE AU MALI

Taux sérique (ng/ml)	Nombre (%) d'essais
0	32 (35)
traces	11 (12)
<50	25 (27)
50-100	13 (14)
100-149	9 (10)
150+	2 (2)
Total	92 ^a (100)
^a Trois essais n'ont pas pu être interprétés pour des raisons techniques.	

4. DISCUSSION

La sensibilité et la spécificité de la méthode par chromatographie gazeuse présentent un intérêt primordial dans les études pharmacologiques et toxicologiques, mais aussi dans certaines études épidémiologiques et thérapeutiques sur le terrain, en particulier dans le but de vérifier la prise du médicament.

On sait que la plus grande partie de la chloroquine sanguine est fixée sur les érythrocytes (Durand, 1974); le sang total est donc le matériel de choix pour la détermination de la chloroquinémie.

Dans certains cas, cependant, seul le sérum ou le plasma est disponible, d'où l'intérêt d'une méthode ultrasensible qui présente comme seul inconvénient un coût relativement élevé (dû en grande partie à l'investissement de base que représente l'achat des appareils) et nécessite au minimum 1-2 ml de liquide biologique.

Dans notre cas, on peut constater qu'au bout d'un an deux tiers des adultes au minimum d'un village traditionnel africain suivaient encore l'autotraitement, ce qui est un résultat remarquable. Dans le même temps, les indices parasitaires affichaient une diminution relative de 79 % chez les hommes et de 77 % chez les femmes et la moyenne géométrique inverse des titres en anticorps fluorescents ne diminuait pas significativement, ce qui correspond aux résultats obtenus par Picq et al. (1976), travaillant dans les mêmes conditions.

REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont au Laboratoire SPECIA qui nous a fourni gracieusement les étalons et les médicaments nécessaires.

SUMMARY

The sensitivity and specificity of gas chromatography as a method of determining chloroquine in biological media are of first importance not only in pharmacological and toxicological studies but also in some epidemiological surveys and field therapeutic trials in the case of malaria, particularly with a view to determining whether the medicament has been taken. The method was applied to the determination of serum chloroquine levels during a trial of self-treatment for malaria in 95 adults living in a hyperendemic village in Mali. After one year two-thirds of these adults, living in a traditional African environment, were still keeping up the self-treatment - a remarkable result. At the same time the parasite rates showed a decrease of 79% in men and 77% in women, while the inverse geometric mean of the fluorescent antibody titres did not decrease significantly; this finding concords with the results obtained by other research workers under the same conditions.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Durand, A. (1974) Thèse Pharmacie (Etat), Marseille
- Picq, J. J., Roux, J., Marcadet, Y., Etienne, J. & Lafaye, A. (1976) Document offset non publié, WHO/MAL/76.866
- Quilici, M., Delmont, J., Ranque, J., Rougemont, A., Martaresche, B. & Boisson, M. E. (1975) Bull. soc. Path. exot., 68, 515
- Rougemont, A., Quilici, M. & Ardisson, J.-P. (1977) In: International Epidemiological Association, 8th International Scientific Meeting Puerto-Rico, Abstracts of Scientific Papers, p. 298
- Viala, A., Durand, A., Cano, J. P. & Jouglard, J. (1972) J. eur. Toxicol., 5, 189
- Viala, A., Gouezo, F. & Durand, A. (1973a) Trav. Soc. Pharm. Montpellier, 33, 389
- Viala, A., Gouezo, F. & Durand, A. (1973b) Trav. Soc. Pharm. Montpellier, 33, 399
- Viala, A., Cano, J. P. & Durand, A. (1975) J. Chromatogr., 111, 299