

CHROMBIO. 5030

Letter to the Editor

Dosage du méthylmethacrylate dans le sérum par chromatographie liquide à haute performance

Monsieur l'Éditeur,

L'utilisation de résines issues du méthylmethacrylate (MAM) monomère est très répandue en biologie humaine: lentilles de contact, prothèses dentaires et résines de scellement des prothèses arthroplastiques.

Des accidents mineurs attribués au MAM sont fréquemment observés au cours des implantations de prothèses fixées à l'aide de ce type de résine. Ces incidents surtout cardiovasculaires, sans gravité, peuvent le devenir du fait de terrain physiologique du malade ou du fait d'une mauvaise réanimation [1]. Le MAM est un monomère très volatil qui représente 2–4% de la masse de la résine polymérisée préparée au moment de l'application [2]. Ce résidu peut passer directement dans la circulation sanguine, au moment de l'intervention chirurgicale ou bien diffuser à travers l'os lorsque la résine est en place. Il est donc intéressant de pouvoir doser ce monomère dans la circulation sanguine.

Des études précédemment menées utilisaient pour ce type de dosage la chromatographie gazeuse (CG). D'autres auteurs se sont servi de la chromatographie liquide à haute performance (CLHP) pour déterminer les taux résiduels de MAM dans les prothèses dentaires ou les lentilles de contact [3–5]. La présente étude nous a permis de définir une méthode de dosage du MAM dans le sérum par CLHP après une extraction sur une cartouche de préconcentration. Le temps d'analyse est ainsi réduit à une dizaine de minutes et le volume d'échantillons utilisé est de quelques millilitres.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le MAM et les solvants utilisés sont de qualité analytique (Merck, Darmstadt, R.F.A.). L'échantillon est préparé à l'aide d'une cartouche Sep-Pak C₁₈

(Waters Assoc., Milford, MA, États-Unis). Cette cartouche est, préalablement, conditionnée par le passage rapide de 10 ml de méthanol et ensuite de 10 ml d'eau. Le dosage est effectué par un chromatographe en phase liquide Varian Série 5000 (Varian, Walnut Creek, CA, États-Unis) équipé d'une vanne d'injection à boucle de 10 μ l (Modèle 7125, Rheodyne, Cotati, CA, États-Unis), d'un détecteur UV (Modèle UV-100, Varian) de capacité de cellule: 4,5 μ l. Les chromatogrammes sont enregistrés et intégrés par le Modèle Varian CDS 401 de la Série Vista. Une colonne LiChrospher 100 RP-8 montée en série (250 mm \times 4 mm I.D., 5 μ m, Merck) assure la séparation chromatographique. Elle est protégée par une colonne de garde LiChrocart 100 RP-8 (5 μ m, Merck). La phase mobile est constituée par un mélange d'eau et d'acétonitrile (50:50, v/v). Le débit est de 1,0 ml/min pour une pression de 130 atm. Les solvants, avant dégazage, sont filtrés sur une membrane de 0,45 μ m (Millipore, Bedford, MA, États-Unis). L'analyse est effectuée à la température de 20 °C.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Préparation de l'échantillon

Afin d'étudier les conditions optimales d'utilisation des cartouches Sep-Pak C₁₈, nous avons cherché à déterminer d'une part la quantité maximale de sérum pouvant être filtrée sur ces cartouches, sans entraîner de pertes en MAM, et d'autre part le volume d'éluant nécessaire pour récupérer la totalité du MAM absorbé sur la cartouche. Ainsi le protocole suivant permet de récupérer 100% de la surcharge en MAM à partir d'un pool de sérum pour des concentrations allant de 93,6 μ g/l à 9,36 mg/l. Après conditionnement un volume de 5 ml de sérum est élué de la cartouche Sep-Pak, sous un débit de deux gouttes par secondes. L'éluution du MAM est obtenue par le passage de 2 ml de méthanol sur la cartouche après avoir rincé celle-ci avec 5 ml d'eau distillée afin d'entraîner les protéines qui pourraient précipiter.

Détection

Le chromatogramme de la Fig. 1 a été obtenu par détection UV (sensibilité 0,05 A.U./mV) après injection de l'éluat d'un sérum surchargé à 8,34 mg/l de MAM et préparé selon les conditions opératoires précédemment décrites. Le temps de rétention du MAM est de 5,4 min.

Validation de la méthode

Sensibilité et linéarité. La sensibilité est de 20 μ g/l et la linéarité a été vérifiée jusqu'à 80 mg/l. La droite de régression linéaire exprimée en surface de pic a pour équation $y = 14611x$ (μ g/l) - 5966 et le coefficient de corrélation est égal à 0,9998.

Répétabilité. Elle a été réalisée sur dix injections successives de cinq échan-

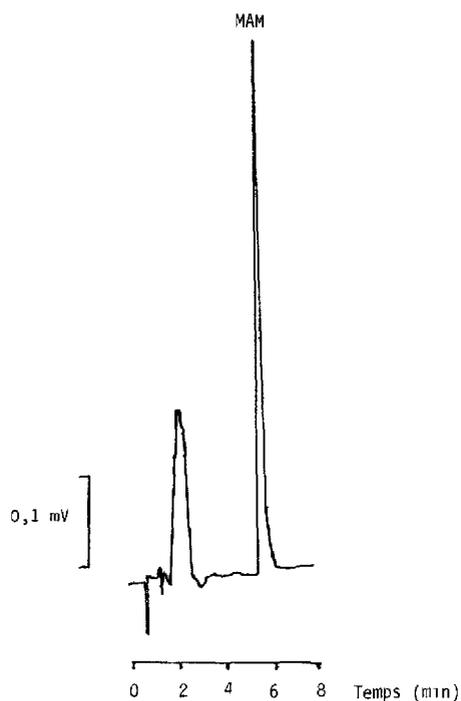


Fig. 1 Chromatogramme d'un extrait de sérum surchargé avec 8,34 mg/l méthylméthacrylate (sensibilité du détecteur 0,05 A.U./mV).

TABLEAU I

RÉPÉTABILITÉ DU DOSAGE DU MÉTHYLMÉTHACRYLATE

Concentration (mg/l)	Coefficient de variation (%)
81,6	0,2
40,8	0,5
8,16	0,8
0,816	2
0,093	5

TABLEAU II

REPRODUCTIBILITÉ DU DOSAGE DU MÉTHYLMÉTHACRYLATE

Concentration (mg/l)	Coefficient de variation (%)
81,6	3,5
40,8	4,4
8,16	5,3
0,816	4,4

tillons contenant différentes teneurs en MAM. Les résultats sont exprimés dans le Tableau I.

Reproductibilité. Elle a été réalisée sur une période de cinq jours par trois opérateurs sur le même matériel et à quatre concentrations différentes. Les résultats sont rassemblés dans le Tableau II.

CONCLUSION

Nous avons mis au point une méthode de dosage du MAM, rapide, sensible et fiable, pouvant permettre de suivre la teneur sanguine de ce monomère au cours de l'implantation d'une prothèse arthroplastique sur un malade. Ainsi, les incidents attribués à cette molécule pourraient être évités.

*Laboratoire de Chimie Analytique
et Toxicologie, Faculté de Pharmacie,
Avenue Charles Flahault,
34060 Montpellier Cédex 1 (France)*

M. LARROQUE*
S. BRUN

- 1 A. Joux, Thèse de Doctorat en Médecine, Université Claude Bernard, Lyon I, Lyon, 1977.
- 2 R.F. Convery, D.R. Gunn, D.J. Hughes et W.E. Martin, *J. Bone Joint Surg.*, 55 (1973) 419.
- 3 K. Aitzetmueller et W.R. Eckert, *J. Chromatogr.*, 155 (1978) 203.
- 4 S. Fujisawa et E. Masuhara, *J. Biomed. Mater. Res.*, 15 (1981) 787.
- 5 J.E. Ruyter et I.I. Sjoevik, *Acta Odontol. Scand.*, 39 (1981) 133.

(Reçu le 28 juin 1989; manuscrit modifié reçu le 11 septembre 1989)