



**Original Paper**

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

## Développement et validation d'une méthode simple et rapide pour le dosage plasmatique de l'éfavirenz par chromatographie liquide haute performance

Cherileila THIOMBIANO<sup>1,2\*</sup>, Moussa YABRE<sup>2,3</sup>, Sami Eric KAM<sup>1</sup>, Ollou DA<sup>2</sup>,  
Nadège KOEVI<sup>1</sup>, Paré DORCAS<sup>1</sup>, Kania DRAMANE<sup>1</sup>, Isidore Tiandio TRAORE<sup>1,2</sup>,  
Cynthia SANDWIDI<sup>1</sup>, Abdoul-Salam OUEDRAOGO<sup>1,2</sup>, Souleymane FOFANA<sup>2</sup>,  
Abdoul Karim SAKIRA<sup>3</sup>, Herve HIEN<sup>1</sup> et Touridomon Issa SOME<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centre Muraz, Institut National de Santé Publique. 2054 avenue Mamadou Konaté, BP 390 Bobo Dioulasso, Burkina Faso.

<sup>2</sup>Institut Supérieur des Sciences de la Santé (INSSA), Université Nazi Boni, 01 BP 1091 Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso.

<sup>3</sup>Laboratoire de Toxicologie Environnement et Santé (LATES), Université Joseph Ki-Zerbo, 03 BP 7021 03 Ouagadougou, Burkina Faso.

\*Auteur correspondant ; E-mail : [leirya@yahoo.fr](mailto:leirya@yahoo.fr) ; Tel : 00226 71340505.

Received: 08-09-2022

Accepted: 11-02-2023

Published: 28-02-2023

### RESUME

L'éfavirenz est un inhibiteur sélectif non nucléosidique de la transcriptase inverse du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) se caractérisant par un index thérapeutique étroit et une forte variabilité inter-individuelle dans ses paramètres pharmacocinétiques. L'objectif de ce travail était de développer et valider une méthode rapide et simple de dosage plasmatique de l'éfavirenz par chromatographie liquide haute performance. Le développement a été effectué en utilisant une colonne C8 (100 x 4,6 mm, 5 µm) et une phase mobile constituée d'un mélange acétonitrile-eau, (55-45 v/v). Le débit et la longueur d'onde de détection étaient respectivement de 1 mL/min et 246 nm. Le temps de rétention de l'éfavirenz était de 6,2 minutes. Aucun étalon interne n'a été utilisé dans cette méthode. L'étude de validation a montré que la méthode mise au point était spécifique, linéaire, exacte et précise dans l'intervalle de concentration de 0,5 à 10 mg/L. La méthode ainsi développée et validée pourrait être utilisée pour déterminer la concentration plasmatique de l'éfavirenz dans le cadre d'un suivi thérapeutique pharmacologique des patients sous antirétroviraux.

© 2023 International Formulae Group. All rights reserved.

**Mots clé :** Efavirenz, Dosage plasmatique, Chromatographie liquide haute performance, Validation de méthode.

## Development and validation of a rapid, simple, and selective method for determination of efavirenz in human plasma using high performance liquid chromatography

### ABSTRACT

Efavirenz is an anti-viral agent non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor category used for the treatment of infections of human immune deficiency virus type-1 (HIV-1). It is characterized by a narrow

therapeutic window and a high variability in its pharmacokinetic parameters. The objective of this work consisted of developing and validating a rapid and simple method for determination of efavirenz in human plasma using high performance liquid chromatography. The method was developed using a C8 column (100 x 4.6 mm, 5 µm) and a mobile phase consisting of acetonitrile and water 55/45, v/v. A flow rate of 1 mL/min and a wavelength of 246 nm was used. The retention time of efavirenz was 6.2 min. No internal standard was employed. The validation study showed that the developed method was selective, linear, accurate et precise over the concentration range of 0.5-10 mg/L. The developed and validated method could be used for the therapeutic and pharmacokinetic monitoring of efavirenz.

© 2023 International Formulae Group. All rights reserved.

**Keywords:** Efavirenz, plasma determination, high performance liquid chromatography, method validation.

---

## INTRODUCTION

L'efavirenz (EFV) est un inhibiteur sélectif non nucléosidique de la transcriptase inverse du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1). C'est une molécule qui demeure dans les schémas thérapeutiques de l'organisation mondiale de la santé pour le traitement du VIH-1 chez l'adulte et l'enfant (WHO, 2019). Il est généralement pris en association avec deux inhibiteurs nucléosidiques analogues de la transcriptase inverse (Tittikpina et al., 2020 ; Vrouenraets et al., 2007). Principalement métabolisé par le cytochrome P450 2B6, l'EFV présente une grande variabilité des paramètres pharmacocinétiques entre les individus, ce qui entraîne une hétérogénéité de la réponse thérapeutique (Kwara et al., 2011; Wang et al., 2019). En outre, il a une fenêtre thérapeutique étroite (1-4 mg/L) avec une concentration plasmatique étroitement liée à son activité antivirale et à la survenue d'effets indésirables (Kappelhoff et al., 2004; Marzolini et al., 2001). En effet, une concentration plasmatique inférieure à 1 mg/L, expose les patients à un échec thérapeutique et/ou une apparition de résistance. Par contre une concentration supérieure à 4 mg/L augmente l'incidence des effets indésirables tels que des troubles neuropsychiques (Kappelhoff et al., 2004).

L'index thérapeutique étroit de l'EFV et la forte variabilité inter et intra individuelle des paramètres pharmacocinétiques font qu'un suivi thérapeutique pharmacologique pourrait aider à optimiser la prise en charge des patients vivant avec le VIH. Selon une étude réalisée au Burkina Faso, seulement 19% des patients sous

traitement avait une charge virale indétectable (Ministère de la Santé du Burkina Faso, 2021). L'optimisation des traitements antirétroviraux grâce à un suivi thérapeutique pharmacologique s'avère ainsi nécessaire pour une meilleure prise en charge des patients. Bien qu'il soit reconnu que le suivi thérapeutique pharmacologique contribue à une meilleure prise en charge des patients, il est faiblement mis en œuvre dans les pays en voie de développement par manque d'équipements et/ou de ressources qualifiées.

La détermination de la concentration plasmatique est une étape indispensable à la mise en place d'un suivi thérapeutique pharmacologique. La chromatographie liquide haute performance (CLHP) est l'une des techniques les plus utilisées pour le dosage plasmatique des médicaments (Yabré et al., 2018). Dans la littérature, il existe des méthodes de CLHP de dosage de l'EFV dans le plasma (Bienvenu et al., 2013; Gupta et al., 2017; Hoffman et al., 2013; Kappelhoff et al., 2003). Cependant, ces méthodes sont souvent longues, complexes et coûteuses, donc peu commodes pour les laboratoires dans les pays à ressources limitées. L'objectif de ce travail était de développer et valider une méthode de CLHP de dosage plasmatique de l'EFV qui soit rapide, fiable et de mise en œuvre relativement facile.

## MATERIEL ET METHODES

### Réactifs et produits chimiques

Le standard analytique d'EFV, avec 99,8% de pureté, a été acquis chez Sigma Aldrich®. L'acétonitrile de grade HPLC

provenait de chez Himedia®. Le diméthylsulfoxyde provenait de chez Honeywell Riedel-de-Haen®. L'eau ultrapure utilisée pour l'analyse chromatographique était produite sur place en utilisant l'appareil Simplicity® UV. Le plasma blanc utilisé était du plasma frais congelé testé négatif au VIH provenant du Centre Régional de Transfusion Sanguine de Bobo Dioulasso. Les comprimés antirétroviraux, ténofovir /emtricitabine 200/245, ténofovir /lamivudine /dolutégravir 300/300/50, abacavir/ lamivudine 60/30, utilisés lors de l'étude de spécificité, ont été fournis par le Département de Pharmacie du Centre Hospitalier Universitaire Sourô Sanou de Bobo Dioulasso.

### Appareillage

La chaîne de chromatographie liquide haute performance, utilisée lors de cette étude, était de marque Agilent 1260®. Cette chaîne était constituée d'une pompe quaternaire, d'un autosampler, d'un four pour la colonne et d'un détecteur à barrette de diodes. La chaîne chromatographique était pilotée par un ordinateur utilisant, pour l'acquisition des données, le logiciel Agilent OpenLAB Control Panel.

### Préparation de la solution standard

Une solution mère d'EFV à 1000 mg/L a été préparée en dissolvant 25 mg du standard analytique dans une fiole jaugée de 25 mL en utilisant du diméthylsulfoxyde comme solvant. La fiole a été ensuite complétée jusqu'au trait de jauge. Une solution fille d'EFV à 100 mg/L a été ensuite préparée en diluant une quantité appropriée de la solution mère dans un volume adéquat de plasma blanc (dilution au 1 :10). Différentes solutions de travail de concentrations comprises entre 0,5 et 10 mg/L ont été préparées en diluant des volumes appropriés de la solution fille d'EFV à 100 mg/L dans des volumes adéquats de plasma blanc.

### Préparation des échantillons

Les échantillons plasmatiques d'EFV ont été traités avant l'analyse

chromatographique. Un volume de 500 µL de l'échantillon de plasma a été transféré dans un tube dans lequel un volume de 500 µL d'acétonitrile a été ajouté pour précipiter les protéines plasmatiques. Le mélange obtenu a été ensuite homogénéisé à l'aide d'un agitateur de type Vortex® de la marque Heidolph® puis centrifugé pendant 15 min à 4500 tours/min en utilisant une centrifugeuse Rotina 380 R de la marque Hettich®. Enfin, un volume de 50 µL du surnageant a été prélevé et injecté dans la chaîne chromatographique.

### Développement de la méthode

Une colonne Luna C8 (100 x 4,6 mm, 5,0 µm) précédée d'une pré-colonne de chez Phenomenex® ont été utilisées lors de l'étude. Le débit, le volume d'injection et la longueur d'onde de détection utilisés étaient respectivement de 1 mL/min, 50 µL et 246 nm. La phase mobile était constituée d'un mélange d'acétonitrile (ACN) et d'eau ultrapure. Différentes proportions de ces deux solvants ont été testées afin de déterminer la composition permettant d'obtenir le temps de rétention de l'EFV le plus court tout en ayant une spécificité adéquate.

### Validation de la méthode

Afin de montrer que la méthode développée était appropriée pour doser l'EFV dans le plasma, une procédure de validation a été appliquée. La validation de la méthode bioanalytique a été effectuée selon les directives de la conférence internationale sur l'harmonisation (ICH) et de l'agence européenne du médicament (EMA) (European Medicines Agency (EMA), 2011; ICH, 2019). Les paramètres de validation étaient la spécificité, la linéarité, la répétabilité, la fidélité intermédiaire, la justesse, les limites de quantification et de détection (KPAIBE et al., 2017).

### Spécificité

La spécificité se définit comme étant la propriété qui fait qu'une méthode d'analyse rend compte sans ambiguïté de la substance analysée en présence d'autres substances (ICH, 2005). L'évaluation de la spécificité a consisté

à analyser des échantillons de plasma blanc et de certains médicaments antirétroviraux (lamuvidine, emtricitabine, tenofovir) couramment administrés concomitamment avec l'éfavirenz. La méthode a été dite spécifique si les temps de rétention des pics obtenus avec ces échantillons étaient différents du temps de rétention de l'EFV.

#### **Linéarité**

La linéarité d'une procédure analytique est sa capacité (dans une plage donnée) à obtenir des résultats d'essai qui sont directement proportionnels à la concentration d'analyte dans l'échantillon (ICH, 2005). Afin de démontrer la linéarité de la méthode développée, une gamme d'étalonnage constituée de six niveaux de concentration (0,5 ; 1 ; 2 ; 4 ; 8 et 10 mg/L) a été préparée en diluant un volume approprié d'une solution d'EFV à 100 mg/L avec le volume adéquat de plasma blanc. Chaque concentration de la gamme a été préparée en double. L'évaluation de la linéarité a été effectuée en calculant l'équation de la droite d'étalonnage  $y = ax + b$  (y étant l'aire du pic chromatographique, x la concentration, a et b respectivement la pente et l'ordonnée à l'origine) et le coefficient de détermination  $R^2$  grâce à la méthode des moindres carrés.

#### **Précision et exactitude**

L'exactitude d'une méthode exprime l'écart de l'accord entre la valeur acceptée comme conventionnellement vraie ou comme valeur de référence (concentration théorique), et la valeur trouvée par la méthode analytique. Quant à la précision, elle exprime l'écart de l'accord entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène dans des conditions prescrites (ICH, 2005). La précision a été évaluée à deux niveaux : répétabilité (exprimant la précision intra-jour) et la fidélité intermédiaire (exprimant la précision inter-jour). Afin d'évaluer la répétabilité, la fidélité intermédiaire et l'exactitude de la méthode développée, une gamme de validation ou de contrôle qualité constituée de cinq (5) niveaux de concentration (0,5 ; 1,5 ; 5 ; 7,5 et 10 mg/L)

a été préparée conformément aux directives ICH sur la validation des méthodes bioanalytiques (ICH, 2019). Les points de validation ont été préparés en utilisant une solution mère différente de celle qui a été utilisée pour préparer la gamme d'étalonnage. Chaque point de contrôle qualité a été préparé en quintuple (cinq répétitions) en effectuant des dilutions indépendantes d'une solution fille à 100 mg/L (préparée avec une solution mère de validation) avec du plasma. Toute la procédure de validation (gamme d'étalonnage et gamme de contrôle qualité) a été répétée sur trois jours différents.

L'équation de la droite obtenue avec la gamme d'étalonnage a été utilisée pour calculer les concentrations réelles à partir des aires mesurées pour chaque point de contrôle qualité.

Les paramètres d'estimation de la répétabilité et de la fidélité intermédiaire étaient le coefficient de variation. Quant à l'exactitude, elle a été estimée à travers le calcul du biais relatif et du taux de recouvrement en pourcentage.

#### **Limite de quantification et limite de détection**

La limite de quantification (LQ) d'une méthode est la plus petite quantité de l'analyte qui peut être quantifiée, dans un échantillon, avec une exactitude et une fidélité appropriées (ICH, 2005). Quant à la limite de détection (LD), elle correspond à la plus petite quantité de la substance considérée qui peut être détectée dans un échantillon, sans forcément pouvoir être quantifiée de façon exacte (ICH, 2005). Dans notre étude, la LQ et la LD ont été déterminées à travers les formules suivantes :  $LQ = 10 s/a$  et  $LD = 3 s/a$  avec  $s$  étant l'écart-type de la droite d'étalonnage et  $a$  étant la pente de cette droite (Ganse et al., 2011).

#### **Analyse d'échantillons de patients**

Afin de démontrer l'applicabilité de la méthode, des échantillons réels de plasma de 36 patients, connus sous un schéma thérapeutique contenant de l'EFV, ont été analysés avec la méthode développée.

## RESULTATS

### Développement et optimisation de la méthode

Le Tableau 1 présente les conditions chromatographiques finales obtenues lors du développement de la méthode. Le volume d'injection a été fixé à 50 µL car un volume d'injection inférieur entraînait un rapport signal sur bruit insuffisant (inférieur à 10) avec une concentration d'EFV à 0,5 mg/L. La phase mobile utilisée était un mélange d'acétonitrile et d'eau. Un mélange initial composé de l'ACN : Eau, 70/30 (v/v) a été utilisé mais cela entraînait une très faible rétention de l'EFV et une interférence de certains pics provenant du plasma. Un mélange ACN : Eau 60/40 (v/v) permettait d'avoir une bonne rétention de l'EFV à 4,2 min mais la résolution n'était pas suffisante pour séparer l'EFV des pics du plasma. La composition de la phase mobile adéquate et finalement retenue était le mélange ACN : Eau 55/45 v/v. Le temps de rétention de l'EFV obtenu était 6,2 min. Une bonne forme de pic était obtenue avec un facteur de symétrie de 1,1. Le développement a été effectué sans l'utilisation d'un étalon interne. La Figure 1B présente le chromatogramme obtenu.

### Validation de la méthode

#### Spécificité

L'analyse du plasma blanc seul n'a montré aucun pic interférent avec celui l'EFV (Figure 1A). Aussi, les échantillons de médicaments potentiellement co-administrés avec l'EFV présentaient des temps de rétention différents du celui de l'EFV (Figure 2).

#### Linéarité

Le Tableau 2 présente les données de linéarité obtenues avec la gamme d'étalonnage.

L'équation de la droite d'étalonnage moyenne obtenue sur les 3 jours de validation était :  $y = 65,34x + 2,27$  avec un coefficient de détermination  $R^2$  moyen de 0,9997. La méthode développée était donc linéaire sur la gamme de concentration comprise entre 0,5 et 10,0 mg/L.

#### Précision et exactitude

Le Tableau 3 montre les données de répétabilité, de fidélité intermédiaire et d'exactitude obtenues avec la gamme de validation ou de contrôle qualité pour chaque niveau de concentration étudiée. Pour chaque niveau de concentration, le biais relatif, les coefficients de variation de répétabilité et de fidélité intermédiaire étaient inférieurs à 5% chacun.

#### Limite de détection et limite de quantification

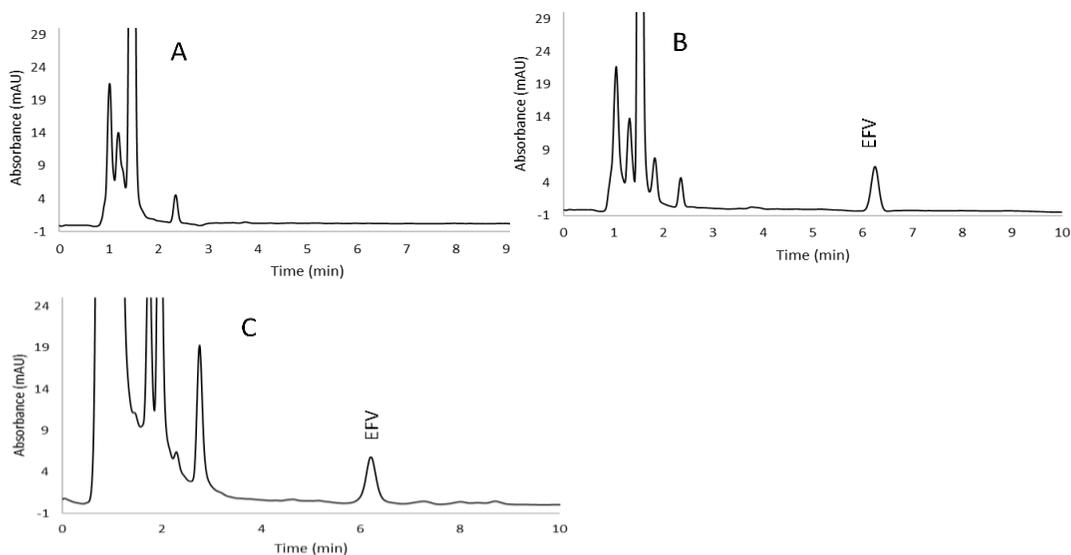
Les limites de détection et quantification déterminées pour la méthode mise au point étaient respectivement de 0,13 et 0,45 mg/L.

### Analyse d'échantillons plasmatiques de patients

Afin de démontrer l'applicabilité de la méthode, des échantillons de plasma de 36 patients, connus sous un schéma thérapeutique contenant de l'EFV, ont été analysés avec la méthode développée. La Figure 1C présente un chromatogramme obtenu avec un échantillon réel de patient sous traitement antirétroviral comprenant l'EFV. L'analyse des résultats obtenus a montré que 22 patients (soit 61%) avaient des concentrations plasmatiques comprises entre 1 et 4 mg/L, 10 patients (28%) avaient des concentrations inférieures à 1 mg/L et 4 patients (11%) avaient des concentrations supérieures à 4 mg/L.

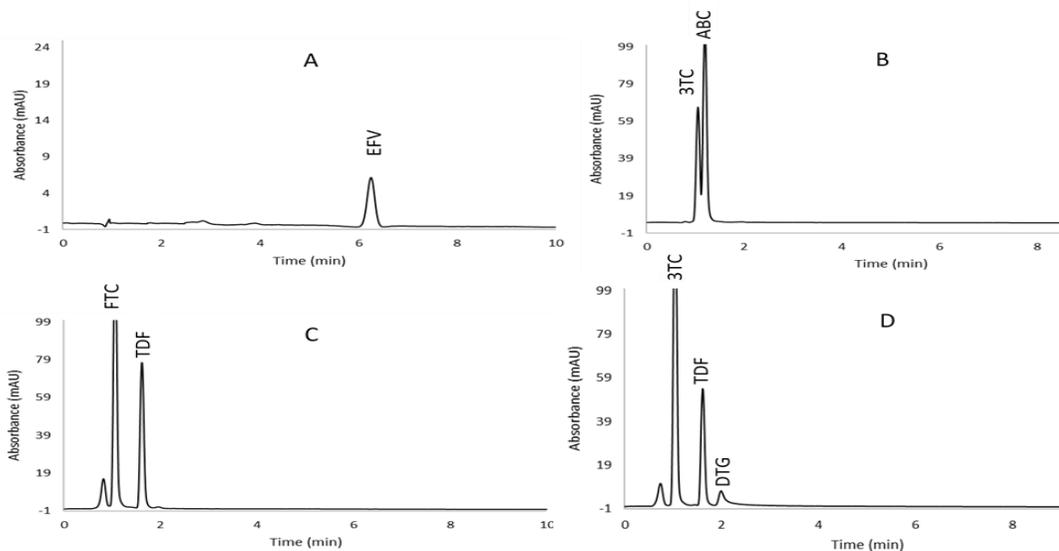
**Tableau 1:** Conditions chromatographiques optimisées.

Paramètres	Caractéristiques
Phase mobile	Acétonitrile-Eau (55/45; v/v)
Colonne	Luna C8 (100 x 4,6 mm, 5,0 µm)
Volume d'injection	50 µL
Débit	1 mL/min
Longueur d'onde	246 nm



**Figure 1:** chromatogrammes d'échantillons de plasma blanc (A), de plasma contenant de l'éfavirenz à 1 mg/L (B) et d'un échantillon réel de patients sous traitement antirétroviral incluant l'éfavirenz (C).

(A), de plasma contenant de l'éfavirenz à 1 mg/L (B) et d'un échantillon réel de patients sous traitement antirétroviral incluant l'éfavirenz (C). Colonne : Luna C8 (100 x 4,6 mm, 5 µm) ; phase mobile : ACN/Eau 55/45 v/v ; Débit : 1 mL/min ; volume d'injection : 50 µL ; Détection à 246 nm.



**Figure 2:** Chromatogrammes de médicaments potentiellement coadministrés avec l'éfavirenz.

A : Efavirenz ; B : abacavir (ABC) /lamivudine (3TC), C : ténofovir (TDF) /emtricitabine (FTC) ; ténofovir (TDF) /lamivudine (3TC) /dolutégravir (DTG). Colonne : Luna C8 (100 x 4,6 mm, 5 µm) ; phase mobile : ACN/Eau 55/45 v/v ; Débit : 1 mL/min ; volume d'injection : 50 µL ; Détection à 246 nm.

**Tableau 2:** Paramètres de linéarité de la méthode.

	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Moyenne	Ecart-type
Plage de concentration	0,5 – 10,0 mg/L				
Pente	68,64	65,84	61,527	65,34	3,58
Ordonnée à l'origine	3,57	2,62	0,61	2,27	2,27
R <sup>2</sup>	0,9996	0,9997	0,9999	0,9997	0,0002

**Tableau 3:** Données de précision et d'exactitude de la méthode.

Concentration (mg/L)		0,50	1,50	5,00	7,50	10,00
Exactitude	Biais relatif (%)	2,38	1,37	0,82	-0,07	2,45
	Taux de recouvrement (%)	102,38	101,37	100,82	99,93	102,45
Précision	Répétabilité (CV en %)	3,66	2,25	2,28	1,54	2,62
	Fidélité intermédiaire (CV en %)	4,13	2,71	2,28	2,30	2,62

CV : coefficient de variation

## DISCUSSION

### Développement de la méthode

Le but de cette étude était de mettre au point une méthode de CLHP rapide et simple pour le dosage de l'EFV dans le plasma. Le temps de rétention de l'EFV était 6,2 min. Un temps d'analyse de moins de 10 min était ainsi obtenu, ce qui démontre de la rapidité de la méthode développée. Afin d'améliorer la simplicité de la méthode, aucun tampon n'a été ajouté dans la phase mobile contrairement aux méthodes existantes dans la littérature qui emploient généralement un tampon phosphate pH acide du fait du caractère acide faible de l'EFV (Bienvenu et al., 2013; Gupta et al., 2017; Hoffman et al., 2013). Malgré l'absence de tampon, une bonne forme de pic (facteur de symétrie de 1,1) et un temps de rétention répétable de l'EFV ont été obtenus. Cela pourrait s'expliquer par le fait que l'EFV est en réalité un acide très faible (pka supérieur à 10) si bien qu'elle se comporte comme une molécule neutre qui ne s'ionise pas dans nos conditions de phase mobile et donc la forme du pic et la rétention ne sont pas influencées par le

pH (Gallicano, 2000). Une autre explication serait l'utilisation d'une colonne (Luna C8) dont le greffon C8 a été optimisé pour améliorer la forme des pics des composés (Phenomenex, 2015).

Dans le but de simplifier la préparation des échantillons, aucun étalon interne n'a pas été utilisé dans la méthode développée contrairement à la plupart des méthodes existantes dans la littérature (Bienvenu et al., 2013; Gupta et al., 2017; Kappelhoff et al., 2003). L'étalon interne est généralement utilisé afin d'obtenir des résultats de meilleure précision surtout lorsque le volume d'injection ou la phase d'extraction des échantillons présente des problèmes de répétabilité. Cependant son utilisation rend la méthode plus coûteuse du fait de la cherté des standards analytiques. Malgré l'absence d'un étalon interne dans notre méthode, les résultats obtenus sont satisfaisants comme le montrent les données de validation de la méthode développée.

### Validation de la méthode

Le but de la validation était de démontrer que la méthode développée était appropriée pour l'usage prévu à savoir le dosage de l'EFV dans le plasma. La plage de concentration comprise entre 0,5 et 10 mg/L a été choisie en tenant compte de l'intervalle de concentration plasmatique efficace de l'EFV comprise entre 1 et 4 mg/L (Kappelhoff et al., 2004). Le coefficient de détermination obtenu (0,9997) sur cette plage démontre de la linéarité de la méthode. Les valeurs de répétabilité et de fidélité intermédiaires inférieures à 5% montrent que la méthode mise au point avait une précision adéquate, la valeur limite admise étant de 15% pour les méthodes bioanalytiques (ICH, 2019 ; EMA, 2011). Le biais relatif maximum obtenu avec notre méthode était largement inférieur à 5%, le biais relatif maximal admis étant de 15% (ICH, 2019 ; EMA, 2011). Notre méthode était donc exacte. Une limite de quantification de 0,45 mg/L a été trouvée, ce qui était suffisant pour l'objectif de la méthode qui était de déterminer la concentration plasmatique de l'EFV chez des patients sous traitement, la plage de concentration plasmatique efficace de l'EFV étant comprise entre 1 et 4 mg/L. L'analyse des autres antirétroviraux généralement administrés concomitamment avec l'EFV n'a montré aucune interférence avec le pic de l'EFV. Cela permet donc de dire que la méthode développée était spécifique et qu'elle pouvait donc être utilisée pour doser l'EFV en présence des autres antirétroviraux.

L'étude de validation menée permet de conclure que la méthode mise au point pour le dosage plasmatique de l'EFV était spécifique, linéaire, précise et exacte dans l'intervalle de concentration comprise entre 0,5 et 10 mg/L. L'applicabilité de la méthode ainsi mise au point a pu aussi être démontrée à travers l'analyse d'échantillons réels de patients sous un traitement antirétroviral contenant de l'EFV.

### Conclusion

Le suivi thérapeutique pharmacologique bien que contribuant à une meilleure prise en charge des patients, est

faiblement mis en œuvre dans les pays en voie de développement par manque d'équipements et/ou de ressource qualifiés. L'objectif de ce travail était de mettre au point une méthode CLHP rapide, simple et fiable de dosage plasmatique de l'EFV caractérisé par un index thérapeutique étroit et une grande variabilité inter-individuelle des paramètres pharmacocinétiques. Afin de réduire le coût de mise en œuvre de la méthode, elle a été développée sans utiliser un étalon interne. L'étude de validation a montré que la méthode mise au point était spécifique, linéaire, exacte, précise et adaptée pour le dosage de l'EFV dans le plasma. La méthode ainsi développée et validée pourrait donc être utilisée pour déterminer la concentration plasmatique de l'EFV dans le cadre d'un suivi thérapeutique pharmacologique des patients ou d'autres études pharmacocinétiques.

### CONFLIT D'INTERETS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts.

### CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

Tous les auteurs ont contribué à cette étude et à la rédaction du manuscrit.

### REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Centre Régional de transfusion sanguine et le Centre Hospitalier Universitaire Sourô Sanou de Bobo-Dioulasso pour la fourniture gracieuse de plasma et de médicaments antirétroviraux.

### REFERENCES

- Bienvenu E, Hoffmann K-J, Ashton M, Kayumba PC. 2013. A Rapid and Selective HPLC-UV method for the Quantitation of Efavirenz in plasma from patients on Concurrent HIV/AIDS and Tuberculosis treatments: Quantitation of Efavirenz in Plasma Containing HIV and TB drugs. *Biomed. Chromatogr.*, **27**: 1554–1559. DOI: <https://dx.doi.org/10.1002/bmc.2959>

- European Medicines Agency (EMA). 2011. Guideline on Bioanalytical Method Validation.
- Gallicano K. 2000. Antiretroviral-Drug Concentrations in Semen. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **44**: 1117–1118. DOI: <https://dx.doi.org/10.1128/aac.44.4.1117-1118.2000>
- Gupta S, Kesarla R, Chotai N, Omri A. 2017. Development and Validation of Reversed-phase HPLC Gradient method for the Estimation of Efavirenz in Plasma. *PLoS ONE*, **12**:e0174777. DOI: <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0174777>
- Ganse H, Gbaguidi F, Aminou T, Zime H, Moudachirou M, Quetin-Leclercq J. 2011. Développement et Validation d'une méthode Quantitative de Dosage par Chromatographie Liquide à Haute Performance Ultra-violet (CLHP-UV) de l'artémisinine dans *Artemisia annua* cultivé au Bénin. *Int. J. Bio. Chem. Sci.*, **5** (1). DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v5i1.68092>
- Hoffman JT, Rossi SS, Espina-Quinto R, Letendre S, Capparelli EV. 2013. Determination of Efavirenz in Human Dried Blood Spots by Reversed-phase High-performance Liquid Chromatography with UV Detection. *Therapeutic Drug Monitoring*, **35**: 203–208. DOI: <https://dx.doi.org/10.1097/FTD.0b013e31827fb72b>
- International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). 2019. Guideline M10 on Bioanalytical Method Validation.
- International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). 2005. Validation of Analytical Procedures: text and Methodology, Q2 (R1). URL: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q2%28R1%29%20Guideline.pdf>
- Kappelhoff B, Crommentuyn K, Maat MMR, Mulder J, Huitema A, Beijnen J. 2004. Practical Guidelines to Interpret Plasma Concentrations of Antiretroviral Drugs. *Clinical pharmacokinetics*, **43**: 845–853. DOI: <https://dx.doi.org/10.2165/00003088-200544040-00009>
- Kappelhoff BS, Rosing H, Huitema ADR, Beijnen JH. 2003. Simple and Rapid Method for the Simultaneous Determination of the Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors Efavirenz and Nevirapine in Human Plasma using Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography B*, **792**: 353–362. DOI: [https://dx.doi.org/10.1016/S1570-0232\(03\)00325-8](https://dx.doi.org/10.1016/S1570-0232(03)00325-8)
- Kpaibe AS, Amin CN, Soumahoro EB, Ake M, Malan AK. 2017. Validation d'une méthode de dosage CLHP de l'Anticancéreux Chlorhydrate de Doxorubicine dans des Poudres Lyophilisées pour Préparation Injectable. *Int. J. Bio. Chem. Sci*, **10**: 2331-2340. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v10i5.30>
- Kwara A, Tashima KT, Dumond JB, Poethke P, Kurpewski J, Kashuba ADM, Court MH, Greenblatt DJ. 2011. Modest but Variable Effect of Rifampin on Steady-State Plasma Pharmacokinetics of Efavirenz in Healthy African-American and Caucasian Volunteers. *Antimicrob Agents Chemother*, **55**: 3527–3533. DOI: <https://dx.doi.org/10.1128/AAC.00980-10>
- Marzolini C, Telenti A, Decosterd LA, Greub G, Biollaz J, Buclin T. 2001. Efavirenz Plasma Levels can Predict Treatment failure and Central Nervous System side effects in HIV-1-infected patients. *AIDS*, **15**: 71-75. DOI: <https://dx.doi.org/10.1097/00002030-200101050-00011>
- Ministère de la Santé du Burkina Faso. 2021. Normes et protocoles de prise en charge médicale des personnes vivant avec le VIH au Burkina Faso, Sixième édition.

- Phenomenex. 2015. Luna Columns. URL: <https://phenomenex.blob.core.windows.net/documents/07a622f4-02be-4c52-8192-844d291a61d7.pdf>
- Tittikpina NK, Wane TM, Diouf D, Thiam K, Diop A, Fall D, Diop YM, Sarr SO. 2020. Development and validation of a UV-Visible method for the Determination of the Active Principle Efavirenz in tablets. *Int. J. Bio. Chem. Sci.*, **14**:279–288. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v14i1.23>
- Vrouenraets SM, Wit FW, Tongeren J van, Lange JM. 2007. Efavirenz: a review. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, **8**: 851–871. DOI: <https://dx.doi.org/10.1517/14656566.8.6.851>
- Wang P-F, Neiner A, Kharasch ED. 2019. Efavirenz Metabolism: Influence of Polymorphic CYP2B6 Variants and Stereochemistry. *Drug Metabolism and Disposition*, **47**: 1195–1205. DOI: <https://dx.doi.org/10.1124/dmd.119.086348>
- WHO. 2019. Update of Recommendations on First and Second-line Antiretroviral Regimens. URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/325892/WHO-CDS-HIV-19.15-eng.pdf>
- Yabré M, Ferey L, Somé IT, Gaudin K. 2018. Greening Reversed-Phase Liquid Chromatography Methods Using Alternative Solvents for Pharmaceutical Analysis. *Molecules*, **23**(5):1065. DOI: <https://dx.doi.org/10.3390/molecules23051065>.