

*Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université d'Ankara, Chaire de  
Pharmacologie et de Toxicologie  
Prof. Dr. M. Şahin Akman*

---

## **DOSAGE BIOLOGIQUE DE L'HISTAMINE PAR L'ESSAI FACTORIEL**

**Kemal OZAN\***

### **Faktoriyel Deneme Tarzında Histamin'in Biyolojik Dozajı**

**Özet:** Bu çalışmada, standart bir histamin çözeltisine göre, biyolojik sıvı, ilaç veya gıda maddelerinde bulunması muhtemel, histamin veya histaminik maddelerin, biyolojik dozajından elde ettiğimiz neticelerin (2, 2) faktoriyel deneme tarzında, istatistik metotlarla ne şekilde tefsir edilebileceği, işlemler mümkün olduğu kadar basitleştirilerek gösterilmiştir

**Résumé:** Dans le présent travail, on a montré l'utilisation de l'essai factoriel (2, 2) pour interpréter les résultats d'un dosage biologique afin de déterminer la quantité de l'histamine ou des substances histaminiques dans les milieux biologiques, les médicaments et dans la nourriture.

### **Introduction**

Il existe actuellement de multiples méthodes chimiques et biologiques pour doser l'histamine dans les humeurs et dans les tissus (1). Mais, les méthodes chimiques de dosage de l'histamine ne peuvent être utilisées que lorsqu'on s'adresse à de fortes concentrations de cette substance en solution pure. D'ailleurs, ces méthodes chimiques étant donné leur manque de spécificité ne sont que très rarement employées. C'est pourquoi, la méthode biologique reste encore le procédé de choix pour doser l'histamine dans des milieux aussi complexes que le sont les humeurs de l'organisme.

D'autre part, durant ces derniers années, la plupart des méthodes biologiques ont été interprétées avec les méthodes statistiques<sup>(2,3,4)</sup>. Or, pour le dosage biologique de l'histamine une telle méthode sta-

\* Professeur agrégé, Faculté de Médecine Vétérinaire, Laboratoire de Pharmacologie et de Toxicologie. Ankara-Turquie.

tistique, n'est pas encore au point. C'est pour cela, dans le présent travail nous avons essayé d'adapter l'essai factoriel (2,2) au dosage biologique de l'histamine.

### Matériel et Méthode

#### *Technique:*

Le dosage biologique de l'histamine ou des substances histaminiques est effectué sur un fragment d'iléon de cobaye selon la technique déjà décrite dans la pharmacopée française (2).

#### *Plan expérimental:*

1. D'abord, on recherche l'activité de l'échantillon par rapport à l'activité de l'étalon (tracé: 1).
2. Deux dilutions de l'étalon ( $4 \cdot 10^{-9}$  et  $8 \cdot 10^{-9}$  g par ml) sont comparées à deux dilutions semblablement espacées ( $i = \log 2 = 0,301$ ) d'un échantillon inconnu. On détermine 4 réponses par dose selon l'ordre indiqué dans le tableau I et tracé 2.

TABLEAU I.

Ordre d'addition au bain des doses  $E_1$ ,  $X_1$ ,  $E_2$ ,  $X_2$   
au cours des différents essais.

$E_1$	$x_1$	$E_2$	$x_2$
$x_1$	$E_2$	$x_2$	$E_1$
$E_2$	$x_2$	$E_1$	$x_1$
$x_2$	$E_1$	$x_1$	$E_2$

#### *Calculs:*

Sur les résultats obtenus de ces dosages, on a procédé à l'analyse statistique suivant l'essai factoriel "log-dose réponse 2,2".

### Résultats

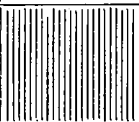
Après avoir rassemblé les résultats, nous avons procédé à leur analyse statistique. Dans ce but, on remplace les lettres du tableau I par les hauteurs de contractions histaminiques en mm (tableau II).

#### *Validité du dosage:*

Les conditions suivantes doivent être remplies:

- 1- Différence étalon-échantillon:

Tableau II. Essai factoriel (2, 2) de l'histamine.\*

Réponses:	ETALON		ECHANTILLON		
	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	
hauteurs de contractions histaminiques en mm.	9	22	7	24	
	8	22	6	21	
	9	27	6	27	
	15	33	14	33	
T <sub>d</sub>	41	104	33	105	
R	7	11	8	12	ER = 38
a	-1	-1	+1	+1	
b	-1	+1	-1	+1	
ab	+1	-1	-1	+1	
T <sub>a</sub>	-41	-104	+33	+105	ET <sub>a</sub> = -7
T <sub>b</sub>	-41	+104	-33	+105	ET <sub>b</sub> = 135
T <sub>ab</sub>	+41	-104	-33	+105	ET <sub>ab</sub> = 9

$$T_a < t_a ER^{**}$$

$$t_a ER = 1,05 \times 38 = 39,9$$

$$T_a = -7 \text{ Essai valable (inférieur à } 39,9).$$

2- Pente combinée:

$$T_b > t_b ER^{***}$$

$$T_b ER = 1,05 \times 38 = 39,9$$

$$T_b = +135 \text{ Essai valable (supérieur à } 39,9).$$

3- Parallélisme des courbes:

$$T_{ab} < t_{ab} ER^{****}$$

$$t_{ab} ER = 1,05 \times 38 = 39,9$$

$$T_{ab} = -9 \text{ Inférieur à } 39,9: \text{ les courbes sont parallèles.}$$

\* E<sub>1</sub> = 0,4 ml; E<sub>2</sub> = 0,8 ml; X<sub>1</sub> = 0,5 ml; X<sub>2</sub> = 1 ml.

T<sub>d</sub> : Total des réponses pour chaque dose.

R : Etendue des réponses par doses, c'est-à-dire écart maximum entre les réponses à chaque dose.

a, b, ab: Coefficients donnés par le tableau III, Pharmacopée VIII, p. 1811.

T<sub>a</sub>, T<sub>b</sub>, T<sub>ab</sub> sont obtenus en additionnant les produits de T<sub>d</sub> par les coefficients correspondants, a, b, ab.

\*\* t<sub>a</sub> pour 4 réponses par dose, essai 2,2 = 1,05 Tab. IV, Pharmacopée VIII, p. 1812

\*\*\* t<sub>b</sub> Cf. Tab. IV, loc. cit. = 1,05

\*\*\*\* tab. Cf. Tab. IV, loc. cit. = 1,05

Logarithme de l'activité relative M':

$$M' = c_i T_a / T_b^*$$

$$M' = 0,301 \times \frac{-7}{135}$$

$$M' = -0,0105 \rightarrow 1,9895$$

Le nombre correspondant est 0,976. C'est-à-dire *l'activité relative de l'échantillon est % 97,6.*

Limites de confiance de l'activité relative:

$$CM' \pm \sqrt{(C-1) (CM'^2 + C'^2)}$$

$$C = T_b^2 / T_b^2 - ebns^2 t^2$$

$$eb = 4^{**}$$

$$n = 4 \text{ (} n = \text{nombre de réponses par dose)}$$

$$S^2 = (Ey^2 - ET_d^2/n) / En-k$$

y = chaque réponse

$$k = 4 \text{ (} k = \text{nombre de doses de l'échantillon + Nombre de doses de l'étalon)}$$

$$t^2 = 4,75^{***}$$

$$C' = 1$$

$$S^2 = (6389 - 24611/n) / En-k$$

$$S^2 = \frac{6389 - 6152}{12} = 19,75$$

$$S^2 = 19,75$$

$$C = \frac{18225}{18225 - (4 \times 4 \times 19,75 \times 4,75)}$$

$$C = 1,08$$

$$M' = -0,0105$$

$$\pm \sqrt{(C-1) (CM'^2 + C'^2)}$$

$$\pm \sqrt{(1,08 - 1) (1,08 (0,0105)^2 + (0,301)^2)}$$

$$\pm 0,085$$

\* c=1 Cf. Tab. Pharmacopée VIII, p. 1814.

\*\* Cf. Tab. III, Pharmacopée VIII, p. 1811.

\*\*\* Cf. Tab. I, Pharmacopée VIII, p. 1809, correspondant à En-k soit à (4x4) - (4) = 12.

Les logarithmes des limites de confiance sont:

$$1,08 \times (-0,0105) \pm 0,085$$

$$-0,01134 \pm 0,08 \left\{ \begin{array}{l} -0,09634 \rightarrow 1,91366 \text{ nombre corres-} \\ \text{pondant } 0,8197. \\ -0,07366 \text{ nombre correspondant} \\ 1,185. \end{array} \right.$$

Les limites de confiance de l'activité relative de l'échantillon (97,6) sont de 81,97 à 118,5 %.

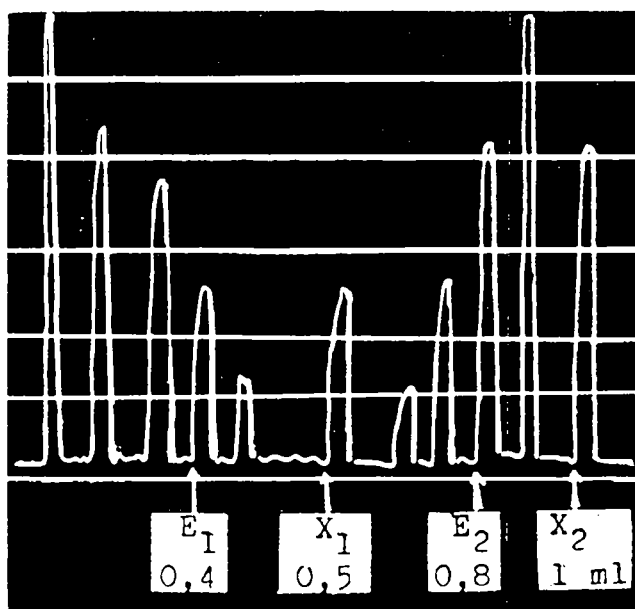
### Conclusion

Les méthodes chimiques se révélant insuffisantes pour doser l'histamine et les substances histaminiques, il a été parfaitement possible d'établir la valeur de l'activité relative et les limites de confiance d'une substance histaminique inconnue en employant l'essai classique de l'iléon de cobaye. Pour cela, il a suffi de planifier l'expérimentation comme nous l'avons fait et d'utiliser la méthode statistique. Nous avons pu ainsi faire des dosage plus précis sur le même l'iléon et à la fois écarter le facteur de la fatigue en manipulant comme indique sur le tableau I.

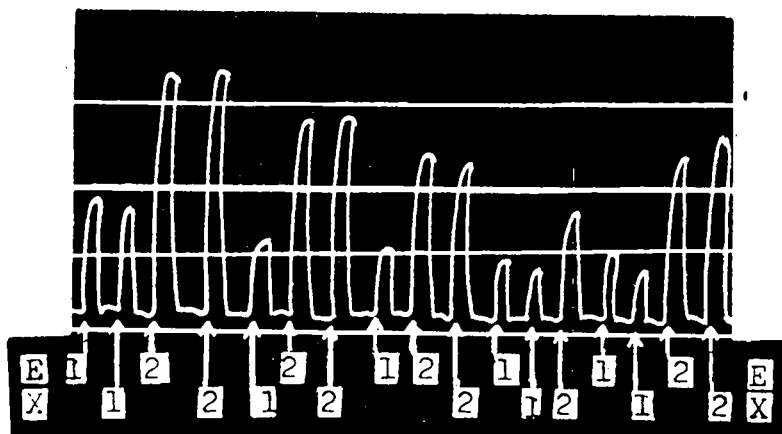
### Bibliographie

- 1 - **Parrot, J. L., Reuse, J.** (1954): *Rôle physiologique et physiopathologique de l'histamine*. J. Physiologie. 46, 99-221.
- 2 - **Pharmacopée Française** (1965): *VIII édition. Monographie: Interprétation statistique des essais biologiques*, 1625-42.
- 3 - **Philippe, J.** (1966): *L'analyse statistique des essais biologiques dans la Pharmacopée française* 1965, Ann. Pharm. Françaises, 28, 755-774.
- 4 - **Valette, G.** (1964): *Méthodes statistiques en Pharmacologie*. Prod. et Prob. Pharm. 19, 97.

Travail reçu le 9 Octobre 1971.



Tracé 1. Dosage biologique de l'histamine sur l'iléon isolé de Cobaye. En E<sub>1</sub>:  $0,4 \cdot 10^{-9}$  g et E<sub>2</sub>:  $0,8 \cdot 10^{-9}$  g de chlorhydrate d'histamine par ml. En X<sub>1</sub>: 0,5 et X<sub>2</sub>: 1 ml d'une substance histaminique inconnue.



Tracé 2. Un dosage d'histamine par l'essai factoriel 2, 2 sur l'iléon isolé de cobaye.