

# **XVII<sup>ème</sup> Congrès Annuel de la Société Française de Toxicologie Analytique**

La Rochelle, 10-12 juin 2009

# **XVIIth Annual Meeting of the Société Française de Toxicologie Analytique**

La Rochelle, 10-12 juin 2009

## **Résumés des communications orales**

Toxicologie alimentaire .....	87
Actualités en toxicologie hospitalière .....	88
Santé au travail et environnement .....	92
Innovations analytiques, thèmes libres .....	94
Actualités sur les stupéfiants .....	97
Conduite automobile .....	99
Toxicologie judiciaire .....	101

<b>Résumés des communications affichées .....</b>	<b>104</b>
---	------------

## COMMUNICATIONS ORALES

## Toxicologie alimentaire

**Crise alimentaire de la galette : contamination du blé noir par l'atropine et la scopolamine**

M. Villain, E. Vallet, M. Duez, V. Cirimele, P. Kintz

Laboratoire ChemTox, 3 rue Grüninger, 67400 Illkirch

**Objectif :** Télégramme du 6 décembre 2007 : à la suite d'un incident indépendant de sa volonté, la société Moulin du Pavillon, basée à Séglien (56) rappelle un produit dénommé « Farine de blé noir de Bretagne » commercialisé sous la marque « la harpe noire ». Seuls sont concernés les sachets papier de 1 kg comportant la mention « à consommer de préférence avant le 1<sup>er</sup> mai 2008 ». Les conditions de la récolte du blé noir entrant dans ce lot de farine ont provoqué la présence d'alcaloïdes (atropine et scopolamine) pouvant entraîner une mydriase, une sécheresse buccale et des vertiges. Le produit a été commercialisé essentiellement sur la région Bretagne et en Loire Atlantique. Conduite à tenir : ne pas consommer ce produit ; le rapporter chez le distributeur, pour identification et échange. En cas de troubles, suite à la consommation de ce produit, consulter un médecin. Dans ces conditions, depuis fin 2007, le laboratoire ChemTox a reçu des demandes de 10 clients différents provenant de l'ouest de la France pour doser l'atropine et la scopolamine dans des échantillons de blé noir.

**Méthode :** Le dosage de l'atropine et de la scopolamine dans les farines et les graines de blé noir se fait après broyage au mixeur (50 g de graines), incubation de 0,5 g dans 2 mL de tampon phosphate pH 8,4 et extraction liquide / liquide avec 4 mL du mélange dichlorométhane/isopropanol/n-heptane (50/17/33), en présence de 10 ng d'atropine-d<sub>3</sub>. Après évaporation à sec, l'extrait est repris dans 100 µL d'acétonitrile/tampon formiate (5/95) et injecté sur un système HPLC-MS/MS. La séparation se fait sur colonne XTerra MS C18 (2,1 × 100 mm) avec un gradient tampon formiate/acétonitrile. Le seuil de positivité a été fixé à 10 µg/kg, bien que cette méthode permette de détecter des concentrations de l'ordre de 0,1 µg/kg d'alcaloïdes.

**Résultats :** Au total, nous avons reçu 46 échantillons de 10 clients venant de Bretagne, Normandie, Aquitaine, Pays de Loire et Centre. 11 étaient supérieurs au seuil de positivité pour l'atropine (11 à 1 530 µg/kg) et 7 pour la scopolamine (27 à 490 µg/kg). Une réponse analytique a également été observée pour l'atropine dans 4 échantillons (2 à 8 µg/kg) et pour la scopolamine dans 8 échantillons (1 à 9 µg/kg).

**Conclusion :** Avec 24 % d'échantillons contaminés, le dosage systématique de l'atropine et de la scopolamine dans le blé noir destiné à l'alimentation apparaît comme nécessaire. L'origine de la contamination au moment de la récolte est la proximité de plants de datura.

**Nouvelle cause d'intoxication à la datura : le blé noir de la filière biologique**

A. Baert, I. Lopez, A. Caubet, C. Verger

Centre antipoison et toxicovigilance, CHU Pontchaillou, Rennes

**Objectif :** Décrire les résultats de l'enquête menée à la suite d'intoxications avec de la farine de blé dur filière biologique contaminée par les alcaloïdes de datura.

**Méthodes :** Sept personnes, ayant ressenti des troubles compatibles avec une intoxication de type atropine après consommation de galettes préparées à partir de farine sarrasin filière biologique, ont contacté le Centre Antipoison de Rennes. Les troubles étaient : une sensation de sécheresse buccale, un flou visuel avec trouble de l'accommodation, vertiges et sensation de malaise, asthénie persistant environ 24 heures. Une femme fabriquant régulièrement

son pain avec ce type de farine et consommant régulièrement des galettes a contacté le Centre antipoison, après un diagnostic erroné de potomanie, posé devant une polydipsie en rapport avec la sécheresse buccale, accompagnée d'une prescription de larmes artificielles. Les services de la Concurrence et la Répression des Fraudes ont analysé différentes farines commercialisées en Bretagne. Les alcaloïdes mis en solution en milieu légèrement acide sont extraits sur terre de diatomées après transfert en milieu alcalin. L'extrait est purifié par un double effet de séparation en milieu apolaire et échange de cations (colonne Bondelut Certify). L'éluat est évaporé, repris par un volume connu de solvant et injecté en LC-MS/MS.

**Résultats.** Les analyses ont mis en évidence (19 cas sur 28) la présence d'atropine et de scopolamine, à des teneurs variant de 1 à 1 000 µg/kg. Chez les personnes intoxiquées, il a été estimé que 2 à 3 galettes apportaient de l'ordre de 0,6 mg d'alcaloïdes. L'origine de cette contamination est liée à la présence de datura (*Datura stramonium* L.). C'est une plante herbacée pouvant atteindre la même hauteur que le sarrasin, et dont la maturité se situe vers la fin du mois d'août. Chaque plant libère au moins 100 graines par fruit. L'absence, dans la filière biologique, de traitement sélectif de la culture de sarrasin, conduit du fait de la dimension des graines à l'inefficacité du tamisage en moulin. Une graine de datura pouvant contaminer 10 000 graines de sarrasin, la détection visuelle n'est pas applicable. Une nouvelle campagne de mesure en 2008 a montré une diminution des taux moyens en alcaloïdes (20 analyses sur 34 conformes). L'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments a proposé un seuil d'intervention de 50 µg/kg d'alcaloïdes dans la farine. Une attention toute particulière à la stratégie de prélèvement des échantillons est recommandée.

**Conclusions :** De par le respect de ses procédures, la culture de type « biologique » du sarrasin expose la farine qui en est produite à une contamination par les alcaloïdes de datura, l'atropine et la scopolamine. En dehors de tout débat sociétal pour ou contre les filières biologiques, une surveillance analytique s'appuyant sur un protocole rigoureux d'échantillonnage est nécessaire. Le seuil de 50 µg/kg est sûr et utile pour la gestion des contaminations.

**Validation du dosage des espèces de l'arsenic urinaire par HPLC-ICP-MS**J.P. Goullé<sup>1,2</sup>, L. Mahieu<sup>1</sup>, E. Saussereau<sup>1</sup>, M. Guerbet<sup>2</sup>, C. Lacroix<sup>1</sup><sup>1</sup>Groupe Hospitalier, Le Havre ; <sup>2</sup>Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rouen

**Objectif :** Le dosage de l'arsenic présente un intérêt majeur pour mettre en évidence une exposition à cet élément tant dans un cadre de toxicologie clinique, judiciaire ou environnementale. Cependant, l'arsenic peut être présent dans les milieux biologiques sous deux formes principales, l'une minérale, poison dont la toxicité est redoutable, l'autre organique, sans danger pour l'homme. Il est donc important de pouvoir préciser la nature minérale ou organique de toute élévation de l'arsenic.

**Méthodes :** L'ICP-MS est un spectromètre X7CCT Thermo Elemental (Thermo Fisher Scientific, Courtaboeuf, France), piloté par un logiciel PlasmaLab V 2.5.0. Cet équipement est couplé à une pompe HPLC Finnigan Spectra SYSTEM P1000XR et dispose d'un dégazeur à membrane (Thermo Fischer Scientific). La séparation chromatographique est réalisée à l'aide d'une colonne d'échange anionique Hamilton PRP-X100 250 × 4,6 mm 5 µm (Reno, NV). L'eau utilisée est purifiée extemporanément sur Milli-QPLUS 185 (Millipore, St-Quentin-en-Yvelines, France). Les réactifs, de qualité « suprapur » pour analyses et les différentes espèces d'arsenic (As III, arsénite – As V, arséniate – MMA, monométhylarséniate – DMA, diméthylarséniate – AB, arsénobétaïne), proviennent de chez Merck (Darmstadt, Allemagne), Prolabo WWR (Fontenay, Blois, France), CPI (Amsterdam, Hollande) et Sigma-Aldrich (St-Quentin-Fallavier, France).

La séparation chromatographique est effectuée à l'aide d'un gradient de carbonate d'ammonium (15 puis 50 puis 15 mmol/L en 13,5 minutes). Les urines sont diluées au dixième avant analyse. En l'absence de matériau certifié contenant les différentes espèces d'arsenic, nous avons chargé des urines de contrôle UTAK (Valencia, CA) et Seronorm (Sero, Billingstad, Norvège) avec respectivement 20 µg/L et 100 µg/L de chacune des 5 espèces.

**Résultats :** La spécificité du dosage a été vérifiée, la présence d'ArCl étant constatée entre les pics de DMA et de MMA. La séparation chromatographique des différentes espèces est optimale. L'étalonnage en milieux aqueux ou urinaire conduit à des résultats identiques. La linéarité de la gamme de mesure est comprise entre 0,5 et 2 000 µg/L. Le coefficient de régression obtenu est supérieur à 0,998 pour les 5 espèces. Les limites de quantification sont les suivantes (résultats exprimés en µg/L d'As) : AB = 1,0 – As III = 1,7 – DMA = 3,5 – MMA = 3,4 – As V = 1,7. La récupération des ajouts dans une gamme aqueuse est comprise entre 90,9 % (AB) et 105,1 % (DMA) ; dans l'urine de contrôle chargée avec 100 µg/L de chaque espèce, elle est comprise entre 100,3 % (MMA) et 102,8 % (DMA). Pour les deux espèces les plus toxiques, la répétabilité analytique (n = 5) est toujours inférieure à 10 % (As III de 21,9 à 123,2 µg/L – CV < 6,7 % et As V de 12,1 à 165,6 µg/L – CV < 10 %). Pour ces deux espèces, la fidélité intermédiaire est également toujours inférieure à 10 %. Nous avons appliqué cette méthode avec succès à des échantillons urinaires et à des poudres suspectes.

**Conclusion :** Le dosage des espèces de l'arsenic grâce au couplage HPLC-ICP-MS permet d'identifier et de quantifier les formes toxiques de l'arsenic (As III, As V).

### Les papilles gustatives crient leur amertume : qui saura expliquer le phénomène ?

F. Flesch<sup>1</sup>, A. Villa<sup>2</sup>, Y. Pauthier<sup>3</sup>, N. Ihadadene<sup>1</sup>, L. Berthelon<sup>1</sup>, C. Tournoud<sup>3</sup>, avec la collaboration des CAPTV de Angers, Bordeaux, Lyon, Marseille, Nancy, Paris, Rennes, Strasbourg, Toulouse

<sup>1</sup>CAPT de Strasbourg ; <sup>2</sup>CAPT de Paris ; <sup>3</sup>Muséum d'Histoire Naturelle de Paris

**Objectif :** Soulever un problème alimentaire, non élucidé à ce jour, en rapport avec la consommation de pignons de pin.

**Méthode :** Interrogation de la BNCI (Banque nationale des cas d'intoxications) qui regroupe les données de 9 Centres antipoison et de toxicovigilance et synthèse des témoignages trouvés sur les forum Internet.

**Résultats :** 55 cas d'amertume buccale consécutive à l'ingestion de pignons de pin ont été colligés dans la BNCI et 41 témoignages ont été rapportés sur Internet. Il est à noter que la responsabilité des pignons dans la survenue de l'amertume buccale est souvent méconnue du fait d'un délai généralement long (> 24 heures) entre la consommation et le symptôme et que seul un interrogatoire orienté permet de retrouver l'agent causal.

**Discussion :** La consommation de pignons de pin peut causer des perturbations graves du goût qui apparaissent généralement après 1 à 2 jours, durent quelques jours à quelques semaines et sont réactivées à chaque consommation d'aliments. Ce problème a été soulevé pour la première fois en 2000, lors du 23<sup>ème</sup> congrès de la STC, et semble connu dans d'autres pays. Une analyse par chromatographie des pignons impliqués aurait uniquement permis d'isoler des constituants compatibles avec des triglycérides et formés d'acides gras insaturés à 16C-18C. Une recherche de résidus de pesticides et de métaux lourds était négative. L'identification macroscopique botanique de graines incriminées suggère une provenance à partir de *Pinus armandii* originaire de Chine ou de *Pinus koraiensis* originaire de Corée, ces 2 types de graines étant cependant comestibles.

**Conclusion :** Une dizaine d'années se sont passées depuis l'observation des premiers cas et le phénomène reste toujours mystérieux. Aussi semble-t-il utile de colliger un maximum de cas via les CAPTV, de récupérer des pignons

suspects afin de remonter les filières d'importation et de commercialisation et enfin de proposer les échantillons aux analystes pour une identification de l'agent causal : graines rances, graines traitées ou graines non comestibles ?

### Actualités en toxicologie hospitalière

#### Adapter la posologie de la pralidoxime chez l'insuffisant rénal est-elle une nécessité ? La réponse de l'expérimental

P. Houzé<sup>1,2</sup>, M. Kayouka<sup>2</sup>, F.J. Baud<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Biochimie, Hôpital Saint-Louis, Paris ; <sup>2</sup>INSERM U705 ; CNRS, UMR 7157 ; Universités Paris 7 et 5, Hôpital F. Widal, Paris

**Introduction :** La pralidoxime (PRX) est utilisée dans le traitement des intoxications organophosphorées. Bien résorbée, non liée aux protéines, peu ou pas métabolisée, elle est éliminée à 95 % par voie rénale sous forme inchangée. L'administration de PRX induit peu d'effets secondaires aux doses habituelles. L'augmentation des concentrations s'accompagne de troubles cardiaques, d'hypertension ou encore d'altération de la vision. Dans le cadre du bioterrorisme, la PRX pourrait être utilisée, à dose élevée, chez des populations à risque d'insuffisance rénale (sujet âgés, diabétiques). Il n'existe aucune donnée concernant l'adaptation de posologie de la PRX chez ces sujets. Le but de ce travail expérimental est de préciser la nécessité ou non de cette adaptation.

**Méthodes :** Les rats mâles Sprague Dawley (250-350 g), sont traités par injection intra-péritonéale de bichromate de potassium (15 mg/kg) pour développer une insuffisance rénale aiguë (IRA). Les animaux témoins et traités (n = 10 par groupe) sont ensuite placés dans des cages métaboliques pendant 4 jours. Le second jour, la pralidoxime est injectée par voie intramusculaire à la dose de 50 mg/kg (pralidoxime base) aux animaux contrôles et IRA. Des prélèvements répétés de sang sont ensuite réalisés pendant 180 min. Après centrifugation et décantation, les plasmas sont conservés à -20 °C jusqu'au moment des dosages. Les urines des 24 h sont recueillies pendant 4 jours. Les concentrations plasmatiques de PRX sont déterminées par chromatographie liquide avec détection électrochimique (linéarité : 1 à 50 mg/L, LOQ : 1 mg/L, précision < 6 %), après défécation par l'acide perchlorique 0,6 N et dilution du surnageant au 1/5 dans de l'eau. Après dilution des urines dans du tampon borate 20 mM, la PRX urinaire est dosée par électrophorèse capillaire. Les valeurs de créatinine sanguine et urinaires sont déterminées sur automate Modular® (Roche) par la réaction de Jaffé en cinétique. Les paramètres pharmacocinétiques ont été calculés par le logiciel WinNonline (Pharsight, CA). Tous les résultats sont exprimés en moyenne ± SEM. L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel Prism (v 5.0), GraphPad Software (San Diego, CA) (seuil de significativité p < 0,05).

**Résultats :** L'injection de bichromate de potassium induit une insuffisance rénale qui est maximale 48 h après l'injection du toxique (clairance de la créatinine : 9,1 ± 0,5 contrôles vs. 0,12 ± 0,05 mL/mn/kg IRA). La cinétique de la PRX chez les rats en IRA est significativement modifiée avec un doublement de la demi-vie d'élimination (38,2 ± 3,8 contrôles vs. 79,1 ± 15,3 min IRA, p < 0,05), un triplement de l'aire sous la courbe (AUC<sub>0-180 min</sub>) (976,3 ± 29,7 contrôles vs. 2661,0 ± 535,6 mg/min/L IRA, p < 0,01) et une réduction de moitié significative de la clairance (57 ± 5 contrôles vs. 27 ± 6 mL/mn/kg IRA, p < 0,01). L'IRA n'entraîne aucune variation dans la résorption et la distribution de la PRX, C<sub>max</sub> et V<sub>d</sub> étant comparables entre les deux groupes. L'insuffisance rénale induit un retard d'excrétion de la PRX dont le maximum est observé 48 h après l'administration au lieu de 24 h dans le groupe contrôle. Nous avons montré qu'il existait une corrélation positive (R<sup>2</sup> = 0,7665) entre la valeur de la clairance de la créatinine et les AUC<sub>0-180 min</sub> des cinétiques de PRX.

**Conclusion :** L'insuffisance rénale modifie l'élimination de la PRX sans en modifier la distribution. Notre modèle suggère que l'adaptation de la posologie de la PRX ne soit nécessaire que pour des patients en insuffisance rénale sévère avec des clairances inférieures à 30 mL/min.

### Crises convulsives inexplicables chez un nouveau-né : penser au syndrome de Münchhausen par procuration

A.S. Lemaire-Hurtel<sup>1</sup>, C. Durand-Maugard<sup>1</sup>, P. Berquin<sup>2</sup>, M. Antonios<sup>2</sup>, L. Hary<sup>1</sup>, M. Andrejak<sup>1</sup>, E. Abe<sup>3</sup>, J.C. Alvarez<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Pharmacologie-Toxicologie, Amiens ; <sup>2</sup>Pédiatrie, Amiens, <sup>3</sup>Pharmacologie-Toxicologie, Garches

**Objectifs :** Nous rapportons le cas d'un nouveau-né de 4 mois hospitalisé en réanimation puis dans le service de neurologie pédiatrique pour crises convulsives d'étiologie inconnue. Il lui est prescrit du diazépam (Valium®), du phénobarbital (Kaneuron®), du Fluorex®, de l'Uvesterol® et du Gelox®. Au cours de son hospitalisation, le nouveau-né présente 6 épisodes d'altération de la vigilance d'apparition brutale, associés à des mouvements anormaux et une hypotonie. La mise en place d'une sonde naso-gastrique dans un but d'alimentation ramène un liquide épais étrange de couleur bleue. Une analyse toxicologique est alors demandée. Plusieurs autres prélèvements (sang, urines, aspiration gastrique, médicaments administrés à l'enfant, contenu des biberons, cheveux) vont être réalisés.

**Méthodes :** Un screening en CG/SM et CLHP/BD est réalisé. Les molécules retrouvées sont dosées par technique chromatographique CLHP/BD spécifique. Les cheveux sont analysés par CL/SM/SM pour recherche des benzodiazépines et autres psychotropes utilisés notamment dans les soumissions chimiques. Le phénobarbital est dosé par technique immunochimique.

**Résultats :** Les analyses permettent l'identification du bromazépam, du diazépam et nordiazépam dans le liquide bleu contenu dans la sonde, de bromazépam (2250 ng/mL) et de phénobarbital (24 µg/mL) dans le sérum, de bromazépam, d'OH-bromazépam et de phénobarbital dans les urines. Aucune molécule n'est retrouvée dans les échantillons de médicaments ou de lait. L'analyse non segmentaire des cheveux, ceux-ci étant trop courts, montre la présence de 5 psychotropes : bromazépam (142 pg/mg), diazépam (18 pg/mg), clobazam (11 pg/mg), zolpidem (276 pg/mg) et cyamémazine (110 pg/mg).

**Conclusion :** Les épisodes d'altération de la vigilance rythmés par la venue des parents, le comportement jugé étrange de la mère se plaignant régulièrement du personnel médical et la mise en évidence d'une solution bleue au niveau de la sonde gastrique, a alerté les cliniciens sur un possible syndrome de Münchhausen par procuration. Les résultats des analyses toxicologiques ont conforté la suspicion des cliniciens. L'analyse des cheveux a en effet permis d'identifier 4 psychotropes ne faisant pas partie de son traitement. Un signalement au Procureur de la République pour possible syndrome de Münchhausen par procuration a conduit à un placement de l'enfant. Ce syndrome est une forme particulière de maltraitance infligée à un enfant, généralement par sa mère. Il consiste en la production volontaire de symptômes physiques ou psychiques en affirmant ne pas en connaître les causes, le but étant que le corps médical intervienne par des investigations ou des traitements. Ce syndrome serait responsable d'environ 10 à 20 % des cas de mort subite du nourrisson chaque année aux États-Unis.

### Criblage et semi-quantification de substances toxiques par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse à trappe d'ions linéaire : une alternative à l'approche REMEDI-HSTM

S. Cohen<sup>1</sup>, J. Velardo<sup>1</sup>, M. Manchon<sup>1</sup>, B. Duret<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Biochimie et Toxicologie, CH Lyon Sud, Pierre-Bénite ;

<sup>2</sup>Thermo Fisher Scientific, Les Ulis

**Objectif :** Évaluation d'un criblage toxicologique en urgence basé sur la technique LC-MS/MS avec un instrument équipé d'une trappe d'ion linéaire : le LXQ™. Les résultats obtenus sur 120 patients ont été comparés à ceux obtenus sur le système REMEDI-HS™ (Biorad).

**Méthodes :** Le système ToxSpec™ présenté ici est constitué d'une HPLC couplée à un spectromètre de masse tandem : le LXQ™. La séparation chromatographique des composés s'effectue en phase inverse sur une colonne

Hypersil Gold PFP™ 150 × 2,1 mm, 5 µm. La phase mobile constituée d'un tampon formiate d'ammonium 10 mM/acide formique 0,1 % et d'acétonitrile/acide formique 0,1 % est délivrée selon un gradient binaire de 32 minutes (rééquilibration incluse) avec un débit de 200 µL/min. Les échantillons (1 mL de serum ou urine) sont préparés par extraction liquide/liquide à l'aide de ToxiTube A (Varian). Après évaporation, le résidu sec est repris par 200 µL de phase mobile et centrifugé. 10 µL de surnageant sont alors injectés dans le système. Au cours de l'analyse, des spectres MS<sup>2</sup> sont acquis en mode DDE (data dependant experiment). Une recherche en bibliothèque est ensuite menée à l'aide du logiciel ToxID™. Les spectres MS<sup>2</sup> obtenus lors de l'analyse sont comparés à ceux des 350 molécules de la bibliothèque et les résultats déterminés en fonction du temps de rétention et de l'indice de similitude des spectres de masse. Trois étalons internes deutérés servent à s'assurer des performances du système et à la quantification.

**Résultats :** 132 molécules ont été testées : psychotropes, médicaments de la sphère cardiaque, antalgiques, anesthésiques et stupéfiants. Pour chaque molécule nous avons établi un seuil de détection en fonction de la sensibilité de la méthode et des fourchettes thérapeutiques. Parmi ces 132 molécules seules huit molécules dont l'acide valproïque, l'acide salicylique, l'atracurium, le diclofenac et l'ibuprofène ne sont pas mises en évidence par ce protocole.

120 échantillons réels ont été analysés par les deux approches. De manière générale tous les composés identifiés par le REMEDI™ ont été confirmés par ToxSpec™. De plus cette plateforme a permis de mettre en évidence un certain nombre de substances non détectées par le REMEDI™ pour des raisons de sensibilité et/ou de spécificité. ToxSpec™ présente une meilleure sensibilité vis à vis des benzodiazépines et des neuroleptiques et permet de retrouver le méprobamate et le paracétamol. La présence de ces substances nouvellement identifiées a été dans certains cas confirmée en GC/MS. Les résultats sont générés de manière automatique à l'aide du logiciel ToxID™. Cet outil permet d'effectuer une recherche en bibliothèque des spectres MS<sup>2</sup> mais il fournit également des informations semi-quantitatives calculées à partir de facteurs de réponse. Il fournit ainsi une estimation de la concentration des molécules identifiées, concentration évaluée et corrigée par rapport au signal de l'étalon interne. À ce jour, des gammes d'étalonnage ont été établies pour 60 molécules à des concentrations comprises entre 0,01 et 0,4 mg/L. Une répétabilité et une reproductibilité ont été évaluées sur 10 sérums de patients différents surchargés avec 9 molécules. Les CV obtenus en général inférieur à 25 % sont jugés satisfaisants pour une estimation semi-quantitative.

**Conclusion :** De part sa facilité d'utilisation et son faible coût de fonctionnement, ToxSpec™ constitue une bonne alternative au remplacement du REMEDI™. Le logiciel ToxID™ permet non seulement d'effectuer une recherche en bibliothèque, mais il fournit également des informations semi-quantitatives relatives aux molécules détectées.

### Intoxication massive par l'olanzapine chez un patient bipolaire

N. Sadeg<sup>1</sup>, J. Richecoeur<sup>2</sup>, H. Belhadj-Tahar<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Unité des soins continus, CHR Pontoise ; <sup>2</sup>Toxicologie Analytique, CHR

Pontoise ; <sup>3</sup>Centre antipoison et de toxicovigilance (CAPTV), CHU Toulouse

**Introduction :** L'olanzapine est un agent antipsychotique atypique appartenant au groupe des thienobenzodiazépines (code ATC : N05AH03) indiqué en particulier pour le traitement des états maniaques agissant comme bloqueur des récepteurs sérotoninergiques 5HT<sub>2</sub> et dopaminergiques D<sub>2</sub>. Dans cet abstract nous rapportons le cas clinique d'une intoxication massive non mortelle d'olanzapine chez un patient bipolaire.

**Cas clinique :** Un patient de 36 ans a été admis aux urgences pour coma secondaire à une tentative d'autolyse par prise massive de Zyprexa.

**Anamnèse :** Prise de 60 cp de Zyprexa (600 mg) avec un délai de prise en charge estimé à 6 heures. **Examen clinique :** Glasgow à 5/15, mouvements anormaux désordonnés, hypertonie des membres ; pupilles en mydriases réactives ; TA : 11/5. ECG : rythme sinusal 100 bat/min et QRS : 0,08 ms.

**Biochimie :** pH : 7,51, PCO<sub>2</sub> : 26 mm Hg ; réserve alcaline : 22 mmol/L (défaut de base : -2,55 mmol/L), PO<sub>2</sub> : 100 mm Hg ; Na : 132 mEq et K : 3,2 mEq. **Toxicologie :** Olanzapinémie à 1 416 ng/ml (extraction sur cartouche Oasis HLB en phase solide (Lab Waters) dosé par LC-MSMS : séparation sur chaîne HPLC Alliance Waters sur colonne C18 Xterra 3 µm par gradient binaire tampon formiate pH 3 et acétonitrile auquel on a rajouté 0,5 % d'acide formique et le tout à un débit de 0,2 mL/min et détection MRM sur QuatroMicro de Waters avec la transition suivante 313→84 pour la quantification et 313→256 pour la confirmation). **Traitement :** Intubation en séquence rapide (ISR) sous étomidate 40 mg et célocurine 80 mg ; ventilation spontanée avec aide inspiratoire (VSAI) entretenu sous sédation par Hypnovel à 3 mg/h. Évolution favorable dans les 24 heures et sortie après prise en charge psychiatrique.

**Discussion :** Bien que la dose supposée ingérée se situe au niveau de la dose minimum létale l'évolution a été favorable sous traitement symptomatique. Il est intéressant de noter que la prise en charge coïncide avec le pic de concentration quantifié à 1 416 ng/mL qui se situe dans la zone de concentrations retrouvée dans les analyses *post mortem* (taux minimum : 660 ng/ml et taux moyen : 1 810 ng/mL). Les taux thérapeutiques se situent dans la fourchette suivante : 9 à 70 ng/mL.

**Conclusion :** L'intoxication massive à l'olanzapine estimée jusqu'à 600 mg peut être de bon pronostic si elle est précocement prise en charge avec un traitement symptomatique adapté.

### **Intoxication aiguë par gélules amaigrissantes « Best Life » : données analytiques à propos d'un cas**

C. Jamey<sup>1</sup>, C. Tournoud<sup>2</sup>, P. Bilbault<sup>3</sup>, F. Flesch<sup>2</sup>, A. Tracqui<sup>1</sup>, B. Ludes<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Toxicologie, Institut de Médecine Légale, Strasbourg ;

<sup>2</sup>Centre Antipoison, CHU, Strasbourg ; <sup>3</sup>Service de réanimation médicale, CHU, Strasbourg

**Objectif :** Nous présentons le cas d'une jeune femme de 24 ans admise aux urgences pour tachycardie, vertiges, palpitations et douleurs abdominales. L'interrogatoire révèle la prise de gélules amaigrissantes de marque « Best Life ». Ce produit contient principalement de la sibutramine, utilisée dans le traitement de l'obésité et du surpoids, et de la phénolphtaléine connue pour ses propriétés laxatives. Un prélèvement sanguin pour analyse toxicologique a été réalisé par le service de réanimation médicale. Dans ce contexte, nous avons développé une méthode originale de dosage de la sibutramine, de ses métabolites M1 (N-monodesméthyl) et M2 (N-didesméthyl) et de la phénolphtaléine par chromatographie liquide ultra haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (UPLC-MS/MS).

**Méthodes :** Dans un tube Eppendorf de 1,5 mL, on ajoute 200 µL d'échantillon, 2 ng de prazépam (standard interne), 200 µL de tampon phosphate pH 5,5 et 800 µL du mélange dichlorométhane/n-heptane/isopropanol (25/65/10). Après agitation (vortex, 30 s), centrifugation (10 500 g, 5 min) et évaporation, l'extrait sec est repris par 50 µL ACN/HCOOH 0,1 % (50/50) et 10 µL sont injectés dans un système UPLC couplé à un spectromètre de masse Quattro Premier™ (Waters). L'élution est réalisée sur une colonne Acquity C18, 1,7 µm, 100 × 2,1 mm i.d. (Waters) avec un gradient ACN/HCOOH 0,1 %. Le débit est de 0,5 mL/min et le temps d'analyse de 5,5 minutes. L'acquisition se fait en mode MRM en sélectionnant les transitions suivantes : 280,1 > 124,7 ; 138,7 et 152,8 (sibutramine) ; 266,1 > 124,7 ; 138,7 et 152,8 (M1) ; 252,0 > 124,7 ; 138,7 et 152,8 (M2) ; 319,0 > 224,9 ; 140,8 et 114,7 (phénolphtaléine) ; 325,0 > 270,9 (prazépam).

Compte tenu de la littérature, la phénolphtaléine présentant une glucuronocouplage importante, une étape préalable d'hydrolyse en présence de bêtaglucuronidase (2 h à 40 °C) a été également réalisée.

**Résultats :** Les temps de rétention respectifs sont de : 2,51 min (sibutramine), 2,24 min (M1), 2,08 min (M2), 1,72 min (phénolphtaléine) et 3,70 min (prazépam). La validation de la méthode a donné les résultats suivants : les

limites de détection et de quantification sont respectivement de 0,01 ng/mL et 0,02 ng/mL pour la sibutramine + métabolites et de 0,2 ng/mL et 0,5 ng/mL pour la phénolphtaléine. Les rendements d'extraction sont supérieurs à 80 % pour la sibutramine + métabolites et supérieurs à 30 % pour la phénolphtaléine. La linéarité ( $r^2 > 0,99$  ; LOQ – 20 ng/mL pour la sibutramine + métabolites ; LOQ – 10 000 ng/mL pour la phénolphtaléine), la répétabilité et la reproductibilité (CV < 15 %) sont satisfaisantes. Aucun effet significatif de la matrice n'a été observé. L'analyse du sang a révélé la présence de sibutramine à 0,40 ng/mL ; M1 à 0,55 ng/mL ; M2 à 1,89 ng/mL ; phénolphtaléine libre à 1,2 ng/mL et phénolphtaléine conjuguée à 166 ng/mL confirmant la glucuronocouplage extensive de ce composé.

**Conclusion :** L'analyse par couplage UPLC-MS/MS a permis la mise en évidence d'une prise conjointe de sibutramine et phénolphtaléine. Il s'agit de notre connaissance du premier cas d'intoxication par gélules amaigrissantes « Best Life » documenté toxicologiquement.

### **Solution hydro-alcoolique : risque d'intoxication par ingestion**

E.M. Billaud<sup>1</sup>, S. Lefeuvre<sup>1</sup>, A. Passeron<sup>2</sup>, A. Lillo-Lelouet<sup>3</sup>, C. Le Beller<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie ; <sup>2</sup>Médecine interne ; <sup>3</sup>Centre Régional de Pharmacovigilance, Hôpital Européen G. Pompidou, Paris

**Objectifs :** Les recommandations de lavage des mains dans le cadre de l'hygiène hospitalière et la lutte contre les infections nosocomiales font appel aujourd'hui aux solutions hydro-alcooliques. À ce titre elles sont en libre accès dans les structures de soins et d'hospitalisation. De manière occasionnelle mais régulière un mésusage par ingestion volontaire est signalé dans la littérature.

**Méthode :** Nous rapportons le cas d'une ingestion de Sterillium® (propanol 30 %, isopropanol 45 % et mécétronium) par un patient hospitalisé au Service d'Accueil des Urgences (J1) dans un contexte d'intoxication alcoolique aiguë, chez lequel le suivi des concentrations sanguines de l'éthanol, du propanol, de l'isopropanol et son métabolite (acétone) (1) ont été mesurées par chromatographie en phase gazeuse couplée à une détection par ionisation de flamme équipée d'un injecteur à espace de tête.

**Résultats :** Il s'agit d'un homme âgé de 44 ans présentant des troubles de la conscience (Glasgow entre 8 et 15) et une hypothermie dans un contexte d'alcoolémie à 2,4 g/L. Ses antécédents comportent un éthyisme chronique connu avec une cirrhose éthylique, compliquée de varices œsophagiennes de grade II (temps de prothrombine aux alentours de 60 %). Le personnel soignant a suspecté le patient d'avoir ingéré au moins à deux reprises du Sterillium® au cours de son séjour. Au décours, il a présenté des troubles de la vigilance avec somnolence, réflexes rotuliens abolis, évoluant vers un coma calme hypotonique avec hypoxie (PO<sub>2</sub> = 64 mmHg), ainsi qu'une haleine cétonique sans acidose métabolique. L'électroencéphalogramme montrait un tracé de coma-sommeil réactif aux stimulations nociceptives et dépourvu d'image de pointe. La tomographie cérébrale n'a pas retrouvé de lésion cérébrale. Après suppression de l'accès au Sterillium®, l'évolution a été spontanément favorable.

L'éthanol était négatif à J4. En revanche, l'isopropanol et le propanol étaient positifs dès J1 (respectivement 0,75 et 1,24 g/L), signant la consommation aux Urgences et à nouveau à J5 (0,20 et 0,75 g/L), compatible avec la réingestion au cours de l'hospitalisation et la demi-vie de ces composés, respectivement 3 à 16 h pour l'isopropanol et 7 à 26 h pour l'acétone (2). L'acétone est en effet présent à J5 seulement (1,85 g/L) et à J10 seul l'isopropanol est encore détectable (0,30) ainsi que l'acétone (1,65 g/L).

Dans la littérature, la sévérité de l'intoxication en fonction du niveau d'exposition est variable et assez pauvrement documentée. Les cas les plus sévères peuvent bénéficier d'une hémodialyse (3).

**Conclusion :** Penser à évoquer ces solutions en cas de troubles de la vigilance et d'haleine cétonique chez un éthylique chronique hospitalisé. La chromatographie en phase gazeuse avec espace de tête permet de renseigner l'isopropanol, le propanol et l'acétone en même temps que l'alcoolémie.

Ce cas clinique de détournement de l'utilisation d'un soluté hydro-alcoolique conduit à recommander un accès limité à ces solutions lors de l'accueil de patients éthyliques connus.

**Références** : [1] Natowicz N et coll. Pharmacokinetic analysis of a case of isopropanol intoxication. Clin Chem. 1985; 31(2): 326-328. [2] Pappas AA et coll. Isopropanol ingestion. J Toxicol Clin Toxicol. 1991; 29(1): 11-21. [3] Abramson S and Singh AK. Treatment of the alcohol intoxications. Curr Opin Nephrol Hypert. 2000; 9: 695-701.

### Produits toxiques de coupage de l'héroïne : importance de la réactivité du laboratoire

C. Monteil-Ganier<sup>1</sup>, M. Gerardin-Marais<sup>2</sup>, A. Pineau<sup>1</sup>, M. Guillou-Landreat<sup>3</sup>, C. Victorri-Vigneau<sup>2</sup>, G. Deslandes<sup>1</sup>, P. Jolliet<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Pharmacologie – Toxicologie, CHU, Nantes ; <sup>2</sup>Centre d'Évaluation et d'Information sur la Pharmacodépendance, CHU, Nantes ; <sup>3</sup>Addictologie, CHU, Nantes

**Objectif** : Le but de ce travail est de mettre en évidence le rôle clé du laboratoire de toxicologie lorsqu'un problème de santé publique survient dans sa région : la rapidité d'exécution des analyses et de rendu du résultat conditionne la diffusion du message d'alerte aux autorités sanitaires et aux professionnels de santé.

**Méthodes** : Nous prenons l'exemple d'une poudre d'héroïne donnant des symptômes inhabituels chez les consommateurs : plusieurs cas sont notifiés en quelques jours. Au laboratoire, les échantillons analysés sont deux poudres d'héroïne ainsi que des liquides biologiques prélevés chez deux patientes hospitalisées aux Urgences. Les poudres reçues ont été analysées par méthode CPG/SM (chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse) et CLHP/BD (chromatographie en phase liquide couplée à une barrette de diodes) après dissolution dans le méthanol. En ce qui concerne le sang et les urines, l'alcoolémie a été mesurée par CPG/DIF (chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme), les recherches automatisées de produits stupéfiants et de médicaments ont été effectuées par polarisation de fluorescence sur AXSYM (ABBOTT®). Les techniques de CPG/SM et CLHP/BD après extraction liquide-liquide en milieu alcalin ont été utilisées pour les screenings toxicologiques, suivies d'un dosage par CLHP/BD de la molécule identifiée. Parallèlement, les cas cliniques ont été documentés par analyse des notifications transmises au CEIP (Centre d'Évaluation et d'Information sur la Pharmacodépendance) et par consultation des dossiers cliniques hospitaliers.

**Résultats** : Cinq cas cliniques sont rapportés : les patients décrivent des symptômes à type de désorientation, amnésie, somnolence, sédation pouvant durer jusqu'à plusieurs jours ; certains ont eu des accidents de voiture, d'autres ont subi des vols, avec ou sans agression, sans être capable de réagir. **Résultat des analyses** : Pour les deux patientes hospitalisées : dans le sang : absence d'alcool et présence d'alprazolam (190 µg/L et 90 µg/L) ; dans l'urine présence d'opiacés et d'alprazolam, de cocaïnes pour une des deux. **Analyse des produits consommés** : L'échantillon de poudre n° 1, résultant d'un mélange d'héroïne et de cocaïne par le consommateur, contient en plus de l'alprazolam. L'analyse de la poudre n° 2 montre la présence d'héroïne (6,6 %), d'alprazolam (21,2 %), de produits de coupage habituels (paracétamol 30,5 %, caféine 40,3 %) ainsi que des alcaloïdes de l'opium (noscapine 2,2 %, papavérine 0,1 %). La somme des différents constituants légèrement supérieure à 100 % est due à l'incertitude sur les mesures effectuées.

**Conclusion** : La présence d'alprazolam dans l'héroïne est compatible avec la symptomatologie notifiée. Une extrapolation nous permet d'estimer qu'un « rail » de 100 mg de cette poudre correspond à l'absorption d'environ 20 mg d'alprazolam, alors que la posologie moyenne journalière se situe entre 1 et 2 mg répartis en 3 prises. Le résultat des différentes analyses laisse penser que la poudre consommée par tous les patients a la même origine. Cette poudre d'héroïne a circulé dans la région nantaise en septembre 2008, pendant

quelques semaines. Aucun cas de toxicité gravissime, ni aucun décès, n'ont été décrits. Huit jours après la première notification, un message d'alerte a été diffusé par le CEIP régional aux médecins des CSST (centre de soins spécialisés aux toxicomanes) et du réseau toxicomanie de Loire-Atlantique ainsi qu'à l'AFSSAPS et à l'ensemble du réseau CEIP. La réactivité du laboratoire à identifier le produit en cause joue un rôle déterminant dans ces situations.

### Comparaison des données analytiques et anamnestiques de consommation de psychotropes par des patients sous traitements de substitution aux opiacés

L.L. Ma<sup>1\*</sup>, M. Loilier<sup>1,2</sup>, J. Bourguin<sup>1</sup>, V. Lelong-Boulouard<sup>1,2</sup>, F. Albessard<sup>2</sup>, R. Le Boisselier<sup>2</sup>, C. Louvigne<sup>3</sup>, C. Vigneau<sup>3</sup>, D. Debruyne<sup>2</sup>, P. Jolliet<sup>3</sup>, A. Coquerel<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Équipe de Pharmaco-Toxicologie, EA 3917 – Inserm ESPRI, Université de Caen ; <sup>2</sup>Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie et Addictovigilance – Centre d'Évaluation et d'Information sur la Pharmacodépendance (CEIP), Service de Pharmacologie, CHU de Caen ; <sup>3</sup>Addictovigilance – CEIP de Nantes, Service de Pharmacologie, CHU de Nantes

**Objectifs** : Depuis 1996 les traitements de substitution (TtS) aux opiacés sont devenus courants en France. Pour les patients suivis en ambulatoire la prescription de buprénorphine (BPN) est très majoritaire alors que dans les centres de soins spécialisés pour toxicomanes (CSST) – qui suivent les addictions les plus sévères – prescrivent surtout de la méthadone (MTD), agoniste opioïde puissant et de longue durée d'action. Durant les TtS on constate que BPN et MTD sont l'objet de nombreux mésusages, abus et détournements. Le suivi de leur usage et des consommations associées est l'objet de diverses enquêtes épidémiologiques pour lesquelles on n'a encore exploité que des réponses à des questionnaires et aucune donnée toxicologique. Nous avons donc proposé une recherche spécifique auprès des patients en TtS dans des CSST ou des services d'addictologie. Au décours d'un questionnaire simple et anonyme le médecin habituel propose de recueillir un échantillon d'urine.

**Méthodes** : Les résultats actuels (l'étude est poursuivie) concernent 85 patients dont 2 ont refusé de fournir un échantillon urinaire. Les TtS étaient : BPN = 14 et MTD = 67. Les techniques d'analyses employées comportaient une détection par des tests d'immuno-chromatographie [nal24®, Ratisbonne]) et/ou de dosages semi-quantitatifs par immuno-analyse (AXSYM®) complétées par des techniques de chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse [GC-MS], ou chromatographie liquide (LC) avec détection en barrette de diode (HPLC-DAD) ou couplée à la spectrométrie de masse en tandem (HPLC-MS/MS). L'HPLC-MS/MS a été utilisée pour quantifier la MTD et son principal métabolite l'EDDP. Les concentrations de MTD et EDDP ont été exprimées par mole de créatinine, ce paramètre étant assimilable à une constante de temps.

**Résultats** : Pour le TtS le taux de concordance entre le traitement prescrit et la mesure dans les urines est très bon : 94 %. En revanche, les données d'interrogatoire entraînent une large sous-évaluation de consommations des stupéfiants en particulier pour le cannabis (15,7 %) et les opiacés hors prescription (dont l'héroïne) : 37,5 %. Nous avons aussi noté la fréquence de la sous notification d'usage de la cocaïne ([n = 13] : 56 %), pour des consultants recrutés hors des services d'addictologie. Pour la méthadone nous avons cherché une corrélation entre la dose quotidienne prescrite et les concentrations urinaires de MTD ou d'EDDP ou la somme des deux, rapportés à la créatinine. Nous avons observé que l'EDDP ( $p < 10^{-3}$ ) et la somme EDDP + MTD ( $p < 10^{-2}$ ) sont globalement corrélés à la dose prescrite. Néanmoins, une frange de patients garde des valeurs urinaires faibles malgré des posologies élevées.

**Conclusion** : Ce type d'enquête mixte (épidémiologique et toxicologique) paraît être un moyen de suivre l'observance des TtS et de faire une évaluation des consommations associées de stupéfiants dans les jours qui ont précédé ces contrôles imprévisibles.

(\*) LL Ma bénéficie d'un contrat de recherche MILDT – AFSSAPS

## Santé au travail et environnement

### Difficultés analytiques rencontrées lors de la caractérisation des pesticides dans les milieux biologiques à l'occasion d'intoxications aiguës ou d'un suivi en milieu professionnel

J.-P. Anger<sup>1</sup>, P. Kintz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UFR Pharmacie Rennes 1 ; <sup>2</sup>Laboratoire ChemTox, Illkirch

**Objectifs :** Malgré les incontestables services qu'ils ont pu rendre à l'agriculture, l'utilisation des pesticides n'est pas sans danger pour l'homme. En dehors des intoxications aiguës accidentelles ou volontaires, l'exposition répétée à ces produits ou la consommation d'aliments contaminés par leurs résidus peuvent être à l'origine de divers troubles pour la santé humaine : perturbations endocriniennes, dérèglement du système immunitaire, apparition de certains types de cancers, troubles de la reproduction, etc. Il importe donc de pouvoir caractériser ou surveiller leur présence dans les divers milieux biologiques (sang, urine, cheveux). L'objet de ce travail est de recenser les moyens analytiques actuels qui permettent de doser les pesticides dans les matrices biologiques et d'insister sur les difficultés analytiques rencontrées lors du choix de la méthodologie et de l'interprétation des résultats.

**Méthodes :** Deux types de cas peuvent se présenter : a) le cas d'une recherche rapide de pesticides dans l'hypothèse d'une intoxication aiguë et b) la surveillance biologique lors d'une exposition professionnelle à des pesticides. De très nombreuses techniques analytiques sont proposées aujourd'hui pour l'analyse des pesticides et/ou de leurs métabolites. Après traitement de l'échantillon, le plus souvent par micro extraction en phase solide (SPME), l'analyse instrumentale proprement dite fait appel aux méthodes chromatographiques classiques comme la chromatographie en phase gazeuse (GC) ou la chromatographie liquide haute performance (HPLC) couplées toutes deux à la spectrométrie de masse simple (MS) ou en tandem (MS/MS). Certaines méthodes dites multi-résiduelles permettent la caractérisation de plusieurs pesticides appartenant à des familles différentes, mais elles restent rares. La plupart des techniques se limite à doser un groupe donné de pesticides d'une même famille, dans des conditions expérimentales bien précises [1].

**Résultats :** La mise en évidence des pesticides dans les milieux biologiques requiert des techniques sophistiquées nécessitant un matériel souvent onéreux et des techniciens expérimentés. Les concentrations toxiques sont très variables d'un composé à l'autre et justifient la recherche d'une limite de quantification (LOQ) parfois très faible. L'obtention d'étalons de référence purs peut être également source de difficultés sans compter qu'il n'existe pas de méthode officielle recommandée. L'interprétation des résultats constitue sans doute le problème majeur car la toxicocinétique des pesticides est difficile à établir chez l'homme [2].

**Conclusions et perspectives :** Il n'existe pas aujourd'hui de méthode universelle pour doser les pesticides dans les milieux biologiques. La mise en place d'une technique donnée nécessite une demande bien précise du clinicien. L'interprétation des résultats est parfois difficile. Il apparaît évident que le développement d'un screening général de recherche des pesticides comme il en existe un aujourd'hui pour les médicaments serait d'une aide précieuse à la fois pour le toxicologue analyste et pour le clinicien.

#### Références

[1] Margariti MG et al. *Ther. Drug Monit.* 2007; 29(2): 150-156. [2] Dulaurent S. et al. *Acta Clin Belg Suppl.* 2006; 1: 71-76.

### Dosage du sulfure d'hydrogène par HS-GC/MS et applications médico-légales

V. Cirimele<sup>1</sup>, A.-L. Pelissier Alicot<sup>2</sup>, M. Villain<sup>1</sup>, P. Kintz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire ChemTox, 3 rue Grüniger, F-67400 Illkirch, France ; <sup>2</sup>Service de Médecine Légale, 27 Bld Jean Moulin, F-13385 Marseille, France

**Objectif :** Mise en place d'une méthode de dosage simple, rapide et performante (spécifique et sensible) pour le dosage du sulfure d'hydrogène dans les échantillons biologiques et application à trois situations médico-légales.

**Méthode :** L'échantillon (1 mL de sang ou 1 g de tissu) est déposé dans un flacon en verre type « espace de tête ». Après sertissage, 1 mL d'acide orthophosphorique concentré est introduit à travers le septum et le flacon est incubé 30 min à 80 °C pour hydrolyse du sang et digestion des tissus. Le flacon est ensuite placé dans un échantillonneur avec préparation espace de tête pour chauffage à 80 °C pendant 5 minutes et pressurisation sous hélium (3 min à 15 psi). Un aliquote de phase vapeur est prélevé et transféré au système chromatographique (Agilent 6890N) par le biais d'une ligne de transfert chauffée à 120 °C. La séparation est réalisée sur colonne Super-Q Plot (30 m × 0,32 mm) à l'aide d'un gradient de température démarrant à 35 °C et allant jusqu'à 250 °C à 25 °C/min. La détection est réalisée sur un détecteur de masse (Agilent 5973) utilisé en ionisation par impact électronique et l'acquisition est limitée sur une plage de masse réduite ( $m/z$  20 à 40). L'identification est basée sur la présence des fragments spécifiques  $m/z$  32, 33 et 34, le dernier fragment étant utilisé également pour la quantification.

**Résultats et discussion :** Cas 1 et 2 : il s'agit de deux personnes ayant perdu connaissance lors de leur intervention sur des installations d'évacuation d'eaux usées. Pour le premier, l'individu est retrouvé inconscient dans un tout-à-l'égout, et malgré les multiples tentatives de réanimation, il décèdera sur les lieux d'où émanait une forte odeur « d'œuf pourri ». Le deuxième cas concerne un égoutier retrouvé décédé lors d'une opération de curage de canalisation d'égout. Lors des autopsies, un œdème pulmonaire bilatéral majeur a pu être observé dans les deux cas. L'analyse de sang des deux égoutiers a permis d'identifier et de quantifier du sulfure d'hydrogène à des concentrations (1,1 et 8,5 mg/L) compatibles avec celles déjà publiées dans la littérature suite à des expositions mortelles imputables au sulfure d'hydrogène [1,2]. Cas 3 : Une femme et sa fille sont retrouvées mortes dans leur appartement où une odeur « d'œuf pourri » oriente rapidement les recherches. Bien que négatif dans le sang, le sulfure d'hydrogène est retrouvé dans les poumons des deux victimes, voie d'entrée du toxique, à des concentrations (1,46 et 1,92 mg/kg) décrites dans la littérature comme pouvant être létales. Dans ce cas, l'origine du sulfure d'hydrogène reste hypothétique mais pourrait néanmoins résulter d'un défaut d'installation du siphon d'évier de la cuisine dans laquelle se trouvaient les victimes.

**Conclusion :** Dans les cas décrits, il a été possible d'identifier et de quantifier le sulfure d'hydrogène dans les échantillons biologiques analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse après préparation par espace de tête. La méthode est simple, rapide, sensible et spécifique et permet de répondre au cas d'intoxication par le sulfure d'hydrogène.

**Références :** [1] Winek CL et al. Death from hydrogen sulphide fumes. *Lancet.* 1968; 1: 1096. [2] Mac Anally BH et al. Determination of inorganic sulfide and cyanide in blood using specific ion electrodes: application to the investigation of hydrogen sulfide and cyanide poisoning. *J Anal Toxicol.* 1979; 3: 111-114.

### Biosurveillance dans une Unité de Reconstitution Centralisée de cytotoxiques par un screening par UPLC-DAD-MSMS

J. F. Wiart<sup>1</sup>, L. Humbert<sup>1</sup>, R. Baccouch<sup>2</sup>, M. Yilmaz<sup>2</sup>, M. Lhermitte<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Toxicologie & Génopathies, Centre de Biologie Pathologie – CHRU de Lille, Lille France ; <sup>2</sup>URCC-Pharmacie centrale CHRU de Lille, Lille, France

**Objectifs :** Pour répondre aux exigences des textes réglementaires et directives relatifs à la protection du personnel exposé aux agents cancérigènes, nous proposons d'évaluer le risque de contamination par les agents cytotoxiques. Une méthode de screening de 10 médicaments cytotoxiques manipulés dans une unité de préparation (5-fluorouracil, cyclophosphamide, cytarabine, dacarbazine, doxorubicine, ganciclovir, gemcitabine, ifosfamide, irinotécan et méthotrexate) a été développée. Les échantillons sont collectés par prélèvements de surfaces exposées à l'aide de compresses de gazes (5 × 5 cm) humidifiées avec de l'EPPI.

**Matériels et méthodes :** Les compresses imbibées sont frottées sur les surfaces en contact avec les cytotoxiques (plan de travail, gants, surface externe des poches diluées...). La désorption est faite par centrifugation au travers d'un filtre. Le filtrat est récupéré puis séché sous courant d'azote à 60 °C. Le résidu sec est repris par la phase mobile et analysé par un système UPLC/TQD (Waters). La séparation chromatographique est réalisée par une colonne ACQUITY BEH C18 (2,1 mm × 100 mm 1,7 µm) dans des conditions de gradient (formate d'ammonium / acétonitrile). Une double détection simultanée est appliquée sur chaque extrait : par barrette de diodes pour le 5 FU et le ganciclovir et en mode masse tandem MRM (2 transitions spécifiques par molécule) pour les 8 autres cytotoxiques.

**Résultats et discussion :** Les cytotoxiques peuvent être détectés avec une haute spécificité. La plupart des échantillons se sont révélés négatifs, malgré une LOQ de 1 ng. Seules quelques traces (< 1 ng) de cyclophosphamide, doxorubicine, cytarabine sur l'extérieur d'une des poches produites, ont été détectées sur un ensemble de 10 prélèvements analysés. La récupération est satisfaisante, puisque comprise entre 52 et 95 %, mise à part la doxorubicine qui est de 25 %.

Ces résultats attestent d'un bon niveau de protection des agents affectés à l'unité de production. La méthode permet en 6 minutes de détecter les 10 cytotoxiques sur les différents prélèvements de surfaces. Elle est rapide et sensible.

Un protocole de contrôle à fréquence adaptée sera mis en place. En l'absence de norme précise, un suivi régulier de cet indicateur permettra d'apprécier le maintien du niveau de protection et témoigne de la qualité des gestes lors des opérations de dilution.

### Surveillance de l'exposition du personnel soignant aux complexes du platine lors des chimiothérapies hyperthermiques intra-péritonéales (CHIP)

J. Poupon<sup>1</sup>, M. Pocard<sup>2</sup>, A. Villa<sup>3</sup>, H. Hasni-Pichard<sup>4</sup>, R. Garnier<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Toxicologie ; <sup>2</sup>Service de Chirurgie Viscérale ; <sup>3</sup>Centre antipoison et Consultation de Pathologie Professionnelle, GH Lariboisière-Fernand Widal, Paris ; <sup>4</sup>CRAMIF, Paris

**Objectifs :** La chimiothérapie hyperthermique intra-péritonéale (CHIP) est une nouvelle approche thérapeutique dont le but est de contrôler l'évolution des cancers localisés sur le péritoine. L'association d'une chimiothérapie associant des dérivés du platine et de l'hyperthermie permet d'obtenir une synergie antitumorale. À notre connaissance, il n'existe aucune évaluation des risques pour le personnel et seul un travail *in vitro* a été réalisé à ce jour [1]. Le but de cette étude est d'évaluer l'exposition potentielle du personnel soignant aux dérivés du platine par une double approche métrologique et biométrologique.

**Méthodes :** Lors d'une séance de CHIP, des prélèvements atmosphériques (n = 3) (au poste d'anesthésie, à 5 mètres du champ opératoire, sur la table de préparation des instruments) et surfaciques à l'aide de 2 types de lingettes Kimwipe® et Anios® (n = 21) ont été réalisés. Les gants du chirurgien (gants externes et sous-gants) et d'un opérateur ont été également analysés. Parallèlement, les urines ont été recueillies chez le personnel soignant (n = 11) avant et après l'intervention ainsi que chez des témoins (n = 6). Les lingettes et les filtres ont été traités par HNO<sub>3</sub> à chaud et les urines ont été diluées au 1/5°. Le platine total a été dosé dans tous les échantillons par ICP-MS (Perkin Elmer Elan DRCE) après optimisation de la méthode.

**Résultats :** D'excellentes limites de détection (LD) ont été obtenues : 0,2 ng/L soit 1,0 ng/L dans l'urine. Dans les filtres et les lingettes, les LD sont de 1 et 3 pg respectivement. Aucune contamination atmosphérique n'a été retrouvée (< 0,05 µg/m<sup>3</sup>). Les prélèvements surfaciques, exprimés en µg Pt/lingettes, montrent des contaminations variables mais toujours extrêmement basses (sur le plateau de la table d'opération à T<sub>0</sub> [0,029], le sol à T<sub>0</sub> [0,008], la pochette de 5FU [0,0013], la pochette de cytotatique [0,0024], le ventre du patient [0,041], la pince [0,184], le sol près de la table après CHIP [3,86], les sabots du

chirurgien [5,56], les mains du chirurgien après retrait des gants [droit : 0,083 ; gauche : 0,024]) à l'exception des gants externes (droit : 24,9 ; gauche : 16,3) et des sabots du chirurgien (5,56). Toutes les urines pré et post-CHIP étaient inférieures à la limite de quantification sauf une (5,8 ng/L) mais située dans les valeurs de référence.

**Conclusion :** Nos résultats mettent en évidence l'absence d'oxaliplatine atmosphérique malgré le chauffage de cette substance et la très faible contamination surfacique. La biométrie permet par ailleurs de confirmer l'absence de contamination du personnel. Cette étude démontre pour la première fois que le niveau d'exposition du personnel à l'oxaliplatine au cours des CHIP est très faible et permet de rassurer de manière objective les différents membres de la communauté médicale impliqués dans cette nouvelle technique de traitement anticancéreux. Les résultats obtenus sur les prélèvements de surface ont aussi permis de proposer des améliorations du protocole opératoire global.

**Références :** [1] Guerbet M. et coll. Evaluation of the risk of contamination of surgical personnel by vaporization of oxaliplatin during the intraoperative hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC). Eur J Surg Oncol. 2007; 33(5): 623-626.

### Comparaison de deux méthodes de dosage de l'arsenic urinaire en SAAE et CLHP/ICP-MS pour une étude d'exposition biologique

L. Labat<sup>1</sup>, C. Fillo<sup>2</sup>, B. Dehon<sup>1</sup>, F. Dor<sup>2</sup>, M. Lhermitte<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Toxicologie et Génopathies, CHRU de Lille ; <sup>2</sup>Institut de Veille Sanitaire, Département Santé Environnement, Saint-Maurice

**Objectif :** De l'arsenic, présent naturellement dans les sols, a été observé à des teneurs élevées dans la communauté de communes Moselle et Madon (54) à l'occasion d'études visant à évaluer les risques sanitaires liés à l'activité d'une aciérie implantée localement. Dans ce contexte, l'InVS, saisi pour répondre aux questions de santé publique qui se posaient, a mis en place une étude d'exposition biologique à l'arsenic (As). L'As s'élimine de façon prépondérante dans les urines, en faisant un milieu biologique de choix pour le dosage des formes inorganiques et organiques dans ce type d'étude.

**Méthodes :** L'étude a été réalisée en deux temps avec une comparaison de deux méthodes organisée sur 100 échantillons. Le dosage par SAAE (spectrométrie d'absorption atomique électrothermique) de l'As non alimentaire total urinaire a permis de sélectionner les 100 échantillons présentant les concentrations les plus élevées (en µg/g créat.). Ces échantillons ont ensuite été dosés par CLHP/ICP-MS (chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en plasma induit) permettant d'établir la spéciation des différentes formes de l'As : As<sup>III</sup> (arsénite), As<sup>V</sup> (arséniate), MMA (ac. monométhylarsonique) et DMA (ac. diméthylarsinique). Les prélèvements avant et après analyse sont conservés à -20 °C. Le dosage en SAAE a été réalisé après extraction organique par du toluène sur un appareil de type Perkin Elmer Analyst 800 en mode four. Une nouvelle méthode de dosage a été optimisée pour cette étude, utilisant un modificateur de matrice (Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O 2 g/L et Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O 2 g/L) (2 µL) pour 20 µL d'extrait. La spéciation a été réalisée sur un ICP-MS de type Agilent 7500a sans cellule de collision dans des conditions classiques [1]. La colonne G3288-800000 (4,6 × 250 mm, Agilent Technologies) permet la séparation des différentes formes. Le laboratoire participe au programme externe de qualité G-EQUAS pour la spéciation et au contrôle externe du Québec pour l'As non alimentaire.

**Résultats :** Une gamme d'étalonnage est réalisée dans les urines de 0,8 (Ldq) à 50 µg/L en SAAE et de 0,5 (Ldq) à 10 µg/L en CLHP/ICP-MS pour chacune des 4 formes. La méthode en SAAE a été validée avec des reproductibilités pour de faibles concentrations (3,9 µg/L et 8 µg/L) inférieures à 6,33 %. La moyenne mesurée en SAAE sur les 100 échantillons est de 6,6 +/- 4,8 µg/L (10,1 +/- 4,1 µg/g créat.) avec des concentrations observées entre 1,2 µg/L

(5,1 µg/g créat.) et 25,5 µg/L (28,2 µg/g créat.). Une bonne corrélation entre les résultats en SAAE et la somme des quatre formes d'As en ICP-MS ( $R^2 = 0,9924$ ) permet de confirmer la validation des deux méthodes de dosage. Les résultats en spéciation montrent la majorité d'As sous forme DMA (mesuré dans 100 % des échantillons) pour des concentrations variant entre 1,85 µg/L et 16,66 µg/L. On mesure du MMA et du As<sup>V</sup> dans seulement 16 % et 3 % des cas.

**Conclusion :** La mesure de l'As urinaire est difficile en population générale en raison des faibles concentrations. La spéciation est nécessaire pour identifier les sources éventuelles de l'exposition mesurée. La comparaison des résultats issus de ces deux méthodes montre une bonne corrélation, permettant de s'appuyer d'emblée sur la méthode HPLC/ICP-MS pour établir la spéciation de l'As au sein des populations exposées, si l'objectif de l'étude le nécessite. Les résultats obtenus en spéciation montrent une majorité d'As sous la forme DMA, métabolite correspondant à la dernière étape du métabolisme de l'As.

**Références :** [1] Labat L et coll. ICP-MS et toxicologie professionnelle. Ann Toxicol Anal. 2007; 19: 23-30.

### Workplace drug and alcohol testing – experience and trends

D. Taylor, K. Rush

Concateno plc, London, UK

**Introduction :** Empirical data on the number of organisations that carry out testing for drugs and alcohol abuse is limited; however in the UK a CIPD survey (Chartered Institute of Personnel and Development) indicated that while 60% of companies have policies covering substance misuse, only 18% include testing. Concateno has been working with organisations since the 1980s to implement policies and testing programs. Initial interest came from the oil, chemical and energy industries, and all forms of transport. Today companies across a wide range of industries are looking at the ways drugs and alcohol can affect business critical decisions as well as safety critical issues.

**Methods :** Concateno carries out approximately 1.7 million workplace urine tests per annum and this has been growing at between 10 and 15% per annum. Screening is carried out using CEDIA immunoassay. All presumptive positive results (approximately 5%) are confirmed using LC or GC-MS. Confirmed positive results are subject to medical review. The drugs panel varies by customer but is typically amphetamines, barbiturates, benzodiazepines, cannabis, cocaine and opiates. Alcohol is also tested in urine historically but more recently in breath. A range of adulteration tests is also carried out.

**Results :** Through interrogation of our laboratory information management system (LIMS) key trends can be determined, in particular overall drug/alcohol positive rates. This ranges from 2% to 6% depending upon the industry sector, the nature of the regulation that supports the testing and the length of time that testing has been a norm. Within the maritime sector, which has carried out drug testing throughout the period, the positivity level has remained stable at 2%. Equally within the UK rail sector where drug testing is subject to industry regulation, the positivity rate has remained stable at approximately 4%. Outside these two industries the positivity rates have been increasing, reaching 6% in 2003. This is thought to be due to the growing number of organizations new to drug testing who experience higher positivity levels initially, until testing becomes more established. Cannabis and Alcohol are the most commonly misused drug in the workplace. The confirmed positive rate for opiates is high, however the majority of this relates to medical usage. Cocaine has shown a significant increase in the last 10 years (from a low base level). Barbiturates have also shown an increase. This is believed to be related to increased mobility in the European Workforce and the fact that Barbiturates are available without prescription in many EU countries. Workers under the age of 35 are the most prevalent

users of Cannabis, Cocaine and Amphetamine. Alcohol positive rates are highest among users either aged between 26-35 or 46-55. Opiate positive rates increase steadily with age, again reflecting medicinal usage.

**Conclusions :** In industries where drug testing (random, pre-employment and for cause) is long established the evidence suggests that positivity rates are maintained at a lower level than those that do not test or who are new to testing. The most commonly abused drugs in the workplace are cannabis, alcohol and increasingly cocaine. Other important factors need to be considered when interpreting the likely outcome of a workplace drug testing programme including the degree of worker education and training, the demographics within the organization and the breadth and scope of the drug and alcohol policy.

### Innovations analytiques, thèmes libres

#### Extraction sélective de cocaïne de plasma humain : une alternative aux immunoadsorbants et aux polymères à empreintes moléculaires

B. Madru, F. Hugon, V. Pichon

Laboratoire environnement et chimie analytique (UMR PECSA 7195), ESPCI ParisTech, Paris

**Objectif :** L'analyse de drogues à l'état de traces dans les fluides biologiques (urine, plasma sanguin) nécessite le plus souvent une étape de purification de l'échantillon afin de limiter les effets de matrice. Pour pallier le manque de sélectivité des supports conventionnels, des supports sélectifs basés sur des mécanismes de reconnaissance moléculaire ont été développés :

- les immunoadsorbants constitués d'anticorps produits contre l'analyte cible immobilisés sur un support [1] ;
- les polymères à empreintes moléculaires possédant des cavités spécifiques à la molécule cible [2].

L'objectif de cette étude est d'évaluer le potentiel d'un nouveau type de support sélectif appelé oligoadsorbant constitué d'aptamères immobilisés sur un support. Les aptamères sont des oligonucléotides capables de se fixer à un ligand avec une affinité et une spécificité comparables à celles des anticorps envers leurs antigènes [3].

**Méthodes :** Un aptamère anti-cocaïne a été immobilisé sur divers supports. Les oligoadsorbants ainsi obtenus ont été caractérisés en termes de rendement de greffage et de rétention spécifique et non spécifique. Un support a été sélectionné pour le développement d'une procédure d'extraction en milieu pur, puis en milieu réel. Les performances de cet oligoadsorbant ont également été comparées à un support d'extraction conventionnel (silice C18).

**Résultats :** La procédure d'extraction développée en milieu pur a permis d'obtenir des rendements d'extraction proches de 90 % sur l'oligoadsorbant. De plus, la capacité de ce support a été évaluée à 733 ng de cocaïne pour 35 mg de phase, valeur amplement suffisante pour l'extraction de la cocaïne à l'état de traces. En ce qui concerne l'extraction en milieu réel, l'analyse du plasma traité par l'oligoadsorbant conduit à un chromatogramme témoignant de l'élimination de nombreux interférents facilitant ainsi la quantification de la cocaïne alors que des coélutions sont observées lors de l'utilisation du support de silice C18. La limite de détection de la méthode en milieu réel a été estimée à 0,1 µg de cocaïne par millilitre de plasma (analyses en LC/UV).

**Conclusion :** La grande sélectivité des aptamères exploitée dans la conception de cet oligoadsorbant a permis une nette amélioration de l'étape de purification avant analyse par rapport aux supports conventionnels. Au vu de ces résultats prometteurs, l'oligoextraction semble être une très bonne alternative à l'immunoextraction et présenterait même quelques avantages en termes de coût et de stabilité. Ils pourraient également remplacer les polymères à

empreintes moléculaires lorsque la molécule cible est particulièrement chère car leur production nécessite une quantité beaucoup moins élevée d'analyte.

**Références** : [1] Hennion MC, Pichon V. Immuno-based sample preparation for trace analysis. *J Chromatogr A*. 2003; 1000(1-2): 29-52 ; [2] Pichon V. Selective sample treatment using molecularly imprinted polymers. *J Chromatogr A*. 2007; 1152(1-2): 41-53 ; [3] Toulmé JJ, Da Rocha S, Dausse E, Azéma L, Lebars I, Moreau S. Les aptamères : du concept à l'outil. *Médecine Nucléaire*. 2007; 31(9): 478-484.

### L'analyse des endocannabinoïdes dans le plasma : un nouveau défi pour le toxicologue analyste

C. Staub, A. Thomas

*Unité de Toxicologie et de Chimie Forensiques (UTCF), Centre Universitaire Romand de Médecine Légale (CURML), Genève, Suisse*

**Objectif** : La découverte dans le milieu des années 90 de ligands endogènes aux récepteurs cannabinoïdes a ouvert une nouvelle aire dans la recherche en toxicologie. La caractérisation de ces endocannabinoïdes (ECs) a mis en évidence des molécules basées sur des amides ou des esters de l'acide arachidonique ayant des affinités variables pour les deux récepteurs membranaires. Bien que l'arachidonoyl ethanolamine (AEA) et le 2-arachidonoyl glycerol (2-AG) semblent être les plus importants de ces messagers lipidiques, d'autres ECs tels que la virodhamine (VA), la noladin ether (2-AGE) et le N-arachidonoyl dopamine (NADA) ont été découverts par la suite. Un des rôles les plus importants dans le système nerveux central (SNC) est d'inhiber d'une manière rétrograde la transmission synaptique en modulant la libération de neurotransmetteurs. Nous présentons ici, le développement et la validation complète d'une méthode de couplage chromatographie liquide – triple quadripole / trappe d'ions linéaires (QqQ<sub>Lit</sub>), permettant l'analyse de ces ECs dans le plasma.

**Méthodes** : Les ECs sont extraits à partir de 0,5 mL de plasma par un mélange d'heptane/acétate d'éthyle (1:1, v/v). La phase organique supérieure est ensuite évaporée et reconstituée dans 50 L d'un mélange acétonitrile/eau (acide formique 0,1 %). L'extrait est ensuite injecté dans un système LC/QqQ<sub>Lit</sub>, composé d'un Ultimate 3000 series (Dionex, Sunnyvale, CA, USA) et d'un QTrap 4000 (Applied Biosystems, Concord, ON, Canada). Pour les substances exogènes, la validation de méthodes est maintenant une procédure bien documentée et faisant partie de la pratique classique d'un laboratoire de toxicologie. En ce qui concerne les substances endogènes, la démarche est plus complexe, entre autres, en raison de l'absence de matrice « blanche ». Afin de prendre en considération ce fait, pour chaque jour de validation, des analyses de concentrations endogènes ont été répétées (n = 6) afin de déterminer le niveau endogène moyen. Ce niveau endogène a ensuite été soustrait, dans tous les calculs effectués au cours de la validation, pour les composés (AEA et 2-AG) présents naturellement dans le plasma.

**Résultats** : La validation de la méthode a montré que la méthode était linéaire de 0,1 à 5 ng/mL pour AEA, de 0,3 à 5 ng/mL pour VA, 2-AGE et NADA, et de 1 à 20 ng/mL pour 2-AG. La répétabilité et la précision intermédiaire sont inférieures à 15 % sur tout le domaine de concentrations. L'exactitude, qui représente la somme de la justesse (biais) et de la précision (déviabilité standard), est présentée sous la forme d'un profil. Ces profils sont pour tous les composés compris dans un intervalle de 20 %. La limite de détection (LOD) a été fixée à 1 pg/mL pour AEA et 100 pg/mL pour les autres ECs. Des analyses préliminaires montrent que seuls AEA et 2-AG sont actuellement détectables dans le plasma humain. Ces analyses (n = 15) ont montré des teneurs de 104 à 537 pg/mL pour AEA et de 2 160 à 3 990 pg/mL pour 2-AG.

**Conclusion** : Ces dernières années, il est devenu de plus en plus évident que le système EC joue un rôle fondamentale dans les mécanismes régulateurs de nombreux processus physiologiques tels que la réponse au stress et à l'anxiété, la dépression, l'anorexie et la boulimie, la schizophrénie, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, l'addiction aux drogues et

l'athérosclérose... Le développement et la validation de méthodes rapides, sensibles et sélectives, comme celle présentée ici, sont donc devenus nécessaires.

### Criblage de 17 benzodiazépines dans les larmes artificielles par CL-SM/SM

T. Besnard<sup>1</sup>, F. Aknouche<sup>1</sup>, H.P. Duval<sup>1</sup>, J. Chofflet<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire Duval-Maggi-Aknouche, Antibes ; <sup>2</sup>Centre d'ophtalmologie, Antibes

**Objectif** : Les larmes sont élaborées par filtration sanguine dans les glandes lacrymales et se composent essentiellement d'eau à 99 %, de sels minéraux, de chlorure de sodium, de protéines et de lipides. Plusieurs publications font référence à l'utilisation de ce milieu pour le dosage de la fraction libre d'un médicament dans le cadre d'études pharmacologiques [1,2]. L'objectif de notre travail a été d'étendre l'utilisation de cette matrice alternative au domaine de la toxicologie. Nous avons donc développé une méthode d'identification de 17 benzodiazépines et apparentés dans des larmes artificielles en utilisant la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem. Cette technique a ensuite été appliquée sur des patients en consultation d'ophtalmologie.

**Méthodes** : Un mélange de solutions étalons de 17 benzodiazépines et de deutérés dans des larmes artificielles a été réalisé. Plusieurs préparations à des concentrations thérapeutiques (5 à 900 ng/mL selon les molécules) et toxiques (50 à 5 000 ng/mL selon les molécules) ont ensuite été déposées sur des bandelettes buvards utilisées en ophtalmologie. Après séchage, une extraction liquide/liquide a été réalisée en milieu alcalin avec un mélange quaternaire de solvants organiques. Les extraits obtenus ont ensuite été séparés sur une colonne HSS C<sub>18</sub> avec une élution en mode gradient utilisant comme solvants de l'acétonitrile et du formate d'ammonium à pH 3,5. Le temps d'analyse pour l'ensemble des molécules était de 15 minutes. Le système analytique utilisé était un chromatographe ACQUITY UPLC<sup>®</sup> avec un détecteur de masse QUATTRO MICRO<sup>®</sup>. Le recueil des larmes chez les patients a été réalisé à l'aide de bandelettes buvards graduées et stériles, positionnées au niveau du tiers externe du cul-de-sac conjonctival inférieur des deux yeux, et laissées en place pendant 5 à 10 minutes.

**Résultats** : Les 17 benzodiazépines ont toutes été retrouvées aux différentes concentrations étudiées. La linéarité a été montrée pour l'ensemble des benzodiazépines testées avec des gammes allant de 5 à 2 500 ng/mL selon les molécules (coefficients de corrélation > 0,99). Les essais de répétabilité sur les différentes concentrations thérapeutiques et toxiques ont donné des CV tous inférieurs à 20 %. L'analyse des larmes des patients a révélé la présence de plusieurs benzodiazépines consignées par l'ophtalmologue.

**Conclusion** : Grâce à l'utilisation de la CL-SM/SM, méthode sensible, spécifique et rapide, il a été possible d'identifier toutes les benzodiazépines testées. D'autres travaux s'avèrent nécessaires pour corrélérer les concentrations sanguines en fraction libre de celles retrouvées dans les larmes humaines.

**Références** : [1] Nakajima M. et coll. *Drug Metab Pharmacokin*. 2003; 18(2): 139-145. [2] Arnold DR. et coll. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2008; 867: 105-110.

### Apport de la précision en masse pour le screening de substances toxiques par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse

B. Duret, E. Genin

*Thermo Fisher Scientific, Les Ulis, France*

**Objectif** : Depuis de nombreuses années maintenant, la LCMS est devenue un outil de choix pour le screening de substances illicites. En spectrométrie de masse tandem, on peut principalement distinguer deux approches. L'une est communément appelée MTS<sup>1</sup> (multi target screening). Comme son nom

l'indique cette méthode est limitée à un certain nombre de composés et on ne recherche que les substances mentionnées dans la méthode par le biais de leur transition SRM (selected reaction monitoring). C'est donc une recherche ciblée. L'autre approche est elle appelée GUS<sup>2</sup> (general unknown screening). Le screening est dans ce cas plus large car le balayage employé est moins spécifique puisqu'il s'agit du mode MS et non plus d'une transition SRM. Dans les deux cas, lorsque le signal détecté atteint une certaine intensité, un spectre MS<sup>2</sup> est acquis et c'est à partir de ce spectre qu'est effectuée une recherche en bibliothèque. Dans ces deux approches cependant, la principale limitation porte sur le nombre de molécules présentes dans la bibliothèque et même si l'approche GUS reste plus large elle n'en reste pas moins limitée par ce critère. Dans l'approche que nous présenterons ici, la confirmation de la présence ou non d'une molécule dans un échantillon réel se fera en fonction de la précision en masse (inférieure à 5 ppm) et d'un certain nombre de critères additionnels qui seront discutés.

**Méthode :** Les échantillons plasma sont préparés par extraction liquide/liquide à l'aide de ToxiTube A (Varian). La séparation est réalisée en phase inverse sur une colonne HPLC de type Hypersil Gold PFP<sup>TM</sup> 150 × 2,1 mm, 5 µm. L'instrument utilisé pour l'acquisition en spectrométrie de masse est un Exactive équipée de la technologie OrbiTrap. L'acquisition est effectuée en mode MS mais également en mode HCD (higher energy collision induced dissociation) afin d'obtenir des informations structurales. Les données sont ensuite retraitées à l'aide du logiciel ToxID<sup>TM</sup>.

**Résultats :** Lors de ce travail, nous avons évalué l'approche GUS sur un instrument équipé de la technologie OrbiTrap : l'Exactive. Les données ont été acquises en mode MS à haute résolution (R = 100 000 à la masse m/z 200) et la précision de la masse mesurée est inférieure à 5 ppm. Les premiers résultats ont démontré que la masse exacte seule ne suffisait pas à confirmer la présence d'une molécule dans un échantillon réel et c'est pour cette raison que nous avons également évalué l'impact d'un certain nombre de critères additionnels tels que : le mode HCD, le temps de rétention et la distribution isotopique. Les résultats ont été obtenus par retraitement automatique à l'aide du logiciel ToxID<sup>TM</sup> en fonction des temps de rétention des molécules et de leur masse exacte. Jusqu'à présent près de 350 composés ont pu être détectés par cette approche et des échantillons patients ont également été analysés afin de valider la robustesse de la méthode. Cet instrument possède également un autre atout, sa vitesse de balayage qui permet d'acquérir jusqu'à 10 spectres/s. Nous avons ainsi pu réduire de manière significative la durée de l'analyse en travaillant en mode U-HPLC.

Enfin contrairement aux approches GUS et MTS ce screening n'est désormais plus limité au nombre de molécules présentes dans la bibliothèque ce qui nous permet de l'étendre aisément à un très grand nombre de composés toxiques.

**Conclusion :** De par ses caractéristiques : précision en masse, résolution, vitesse de balayage et un coût équivalent à un appareil de type triple quadripolaire, l'Exactive apparaît comme un outil de choix pour le screening de substances toxiques.

**Références :** [1] Mueller CA et al. Rapid Commun Mass Spectrom. 2005; 19: 1332-1338. [2] Sauvage F.L. et al. Clin Chem. 2006; 52(9): 1735-1742.

### Études des cinétiques sanguines et cérébrales du $\Delta^9$ -tétrahydrocannabinol, de ses métabolites, du cannabidiol et du cannabinol chez la souris

C. Duverneuil-Mayer, E. Abe, J.C Alvarez

Laboratoire de toxicologie, CHU R. Poincaré, Garches

**Objectifs :** Les effets des cannabinoïdes semblant se poursuivre au-delà de leur présence dans le sang [1], l'objectif de cette étude est de déterminer s'il peut exister un décalage de cinétique des cannabinoïdes entre cerveau et sang.

Le cannabis contient, outre le  $\Delta^9$ -THC habituellement étudié, du cannabidiol (CBD) constituant prédominant et précurseur des autres cannabinoïdes et du cannabinol (CBN) catabolite *in situ* du CBD. Ces deux derniers composés sont très peu étudiés dans la littérature, alors que le CBD est pourtant une molécule active. Nous nous sommes donc également intéressés à ces deux autres cannabinoïdes.

**Méthodes :** Après mise au point et validation d'une technique permettant le dosage par CPG/SM du  $\Delta^9$ -THC, de ses métabolites, du cannabinol et du cannabidiol, nous avons effectué des cinétiques de ces composés dans le sang, les hémisphères cérébraux et dans le cervelet de souris Swiss. Les souris ont été traitées en intrapéritonéal par des doses variant de 10 à 50 mg/kg en fonction du composé. Six temps ont été étudiés (trois souris par temps) entre 15 minutes et 4 heures.

Parallèlement, nous avons dosé les cannabinoïdes dans des prélèvements de sang et de cerveau de personnes décédées pour lesquelles le dépistage urinaire s'était révélé positif pour le cannabis. Sept zones du cerveau ont été étudiées car décrites comme particulièrement riches en récepteurs CB1 aux cannabinoïdes : putamen, pallidum, cortex préfrontal, lobes cérébelleux, gyrus cingulaire, hippocampe, noyaux caudés.

**Résultats :** Les cannabinoïdes ont été extraits de manière satisfaisante par notre technique pour les 3 niveaux de contrôles étudiés puisque les rendements d'extraction sont supérieurs à 85 % pour toutes les molécules. L'intervalle de linéarité a été validé de 0,2 à 20 ng/mL pour le  $\Delta^9$ -THC, de 0,5 à 20 ng/mL pour le 11-OH-THC, le CBN et le CBD et de 1,5 à 100 ng/mL pour le THC-COOH. Les limites de quantification sont de 0,2 ng/mL pour le  $\Delta^9$ -THC, de 0,5 ng/mL pour le 11-OH-THC, le CBN et le CBD et de 1,5 ng/mL pour le THC-COOH. Les limites de détection sont de 0,1 ng/mL pour le  $\Delta^9$ -THC, de 0,2 ng/mL pour le 11-OH-THC, le CBN et le CBD et de 0,5 ng/mL pour le THC-COOH.

Chez la souris, nous n'avons pas retrouvé de 11-OH-THC ni de THC-COOH dans le sang des souris, dû à un métabolisme différent de celui de l'homme. Par contre, nous avons mis en évidence un décalage de cinétique dans le sang et dans le cerveau : le  $\Delta^9$ -THC et le cannabidiol sont encore présents dans le cerveau et dans le cervelet une fois éliminés du sang. En revanche, un décalage inverse a été observé pour le cannabinol avec un pic cérébral plus précoce que le pic plasmatique. Chez l'homme, nous retrouvons encore du  $\Delta^9$ -THC, du CBD et/ou du CBN dans certaines zones du cerveau alors que les cannabinoïdes ont disparu du sang, voire même des urines dans un cas. Cette persistance pourrait expliquer les troubles spatio-temporaux durables de certaines personnes consommatrices de cette drogue.

**Conclusion :** Ces résultats préliminaires semblent confirmer que le  $\Delta^9$ -THC et le cannabidiol persistent plus longtemps dans le cerveau que dans le sang. L'étude d'un nombre plus important de cas humains est nécessaire pour valider ces résultats. Une telle confirmation pourrait avoir une importance majeure dans la compréhension des effets du cannabis qui peuvent parfois perdurer très longtemps après consommation.

**Références :** [1] THC can be detected in brain while absent in blood. Mura P, Kintz P, Dumestre V, Raul S, Hauet T. J Anal Toxicol. 2005; 29(8): 842-843.

### Évaluation de l'incorporation de xénobiotiques dans les cheveux par la mise au point de modèles expérimentaux

A. Guermeur, S. Grassin-Delye, J.C. Alvarez

Laboratoire de toxicologie, CHU R. Poincaré, Garches

**Objectifs :** Le cheveu est une matrice qui a connu un essor considérable en toxicologie analytique ces dernières années. Les mécanismes d'incorporation des drogues dans cette matrice restent cependant mal connus. L'objectif de cette étude a été d'évaluer deux modes d'incorporation dans les cheveux, le mode actif par l'intermédiaire du bulbe et le mode passif par la sueur ou l'environnement. La cocaïne, molécule très étudiée dans les cheveux, a été choisie pour évaluer cette incorporation.

**Méthodes :** Nous avons tenté de mettre au point différents modèles expérimentaux permettant cette étude. Tout d'abord, un modèle de culture

*in vitro* de fragments de cuir chevelu provenant de déchets opératoires type « lifting », pour l'évaluation de l'incorporation par le flux sanguin. Sept milieux de culture différents ont été testés, avec et sans isolement des follicules capillaires, plus ou moins supplémentés en minoxidil (stimulant de la pousse capillaire). Ensuite, trois modèles d'étude de l'incorporation passive dans les cheveux ont été mis au point et étudiés, un en milieu liquide et deux en gel d'agarose. Nous avons testé l'effet de traitement capillaire (décoloration et permanente) sur l'incorporation de la cocaïne dans deux types de cheveux, bruns et châains, et l'effet de ces traitements sur la cocaïne déjà incorporée dans les cheveux. La cocaïne incorporée a été extraite des cheveux par hydrolyse suivie d'une extraction liquide/liquide, puis dosée en chromatographie liquide couplée à une détection par spectrométrie de masse tandem.

**Résultats** : Aucune croissance capillaire permettant une étude d'incorporation n'a pu être observée sur les fragments de cuir chevelu maintenus en culture. Seule une pousse de 1 mm a pu être obtenue avec des bulbes isolés, mais pas suffisante pour permettre d'étudier les phénomènes d'incorporation. Une nécrose tissulaire semble survenir par ailleurs après 10 jours de culture. Dans l'étude de l'incorporation passive, nous avons d'abord observé que la cocaïne en milieu liquide, pouvant mimer la sueur, migre de manière importante par capillarité à l'extérieur du cheveu, mais ne semble pas s'incorporer par ce phénomène dans le cheveu, au moins à court terme. Le modèle en gel d'agarose permet de s'affranchir de ce phénomène de capillarité. Toutefois ce modèle nécessite des lavages supplémentaires de décontamination car le gel contenant la cocaïne est fortement lié à l'extérieur du cheveu. Un modèle avec la mèche placée en U dans le gel permet d'éviter l'incorporation par l'extrémité des cheveux que l'on observe si cette extrémité plonge dans le gel. Ce dernier modèle a été utilisé pour évaluer les effets des traitements cosmétiques (décoloration et permanente). Si le traitement a lieu avant l'exposition à la substance, le traitement ne modifie pas l'intégration future. Par contre, ces traitements diminuent de manière très significative les concentrations de cocaïne déjà incorporée au moment du traitement. On observe jusqu'à 90 % de perte de cocaïne dans des cheveux châains. Par contre, il n'y a pas de glissement de la cocaïne sur les segments adjacents suite à ces traitements.

**Conclusion** : La mise au point de notre modèle de culture de cuir chevelu humain est poursuivie au laboratoire car ce modèle permettrait d'étudier l'intégration de l'ensemble des molécules d'intérêt, pour tenter de comprendre pourquoi certaines comme le lorazépam s'intègrent mal dans le cheveu. Nous poursuivons par ailleurs ces travaux avec d'autres molécules que la cocaïne, en particulier les benzodiazépines.

## Actualités sur les stupéfiants

### Quand le toxicologue cultive au laboratoire : expertise de champignons de Saint Isidore

V. Dumestre-Toulet<sup>1</sup>, F. Charvier<sup>1</sup>, A. Eyquem<sup>1</sup>, J. Guinberteau<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire TOXGEN, Bordeaux ; <sup>2</sup>INRA, MYCSA, Bordeaux

**Objectif** : Le travail présenté ici correspond à une réquisition judiciaire peu commune, mettre en évidence la présence de produits stupéfiants à partir d'un substrat censé contenir des spores de champignons hallucinogènes acquis sur Internet.

**Méthodes** : 100 g de substrat ont été fournis au laboratoire. Une méthode de culture a été développée sur le principe de la « chambre humide » selon les indications retrouvées sur différents sites Internet. Après récolte, une partie des champignons a fait l'objet d'une étude taxonomique, l'autre partie (sporopores) a été analysée selon les techniques décrites dans la littérature [1,2] après macération de sporopores (ou carpophores) broyés dans du méthanol par CPG/SM après dérivation avec BSTFA/TMCS 1 %.

**Résultats** : L'étude taxonomique identifie des champignons de type *stropharia cubensis* ou champignons de Saint Isidore, appartenant au genre psilocybe, à sporée améthyste caractéristique, et originaires du Mexique. Les analyses chromatographiques réalisées sur l'extrait méthanolique mettent en évidence de la psilocybine (0,37 %) et de la psilocine (0,026 %), composés indoliques classés stupéfiants selon la loi de 1990 (Annexe IV) et permettent de caractériser l'infraction. Ces valeurs sont en accord avec les données publiées [1].

**Conclusion** : Les champignons identifiés formellement ici ne correspondent pas à l'une des espèces communément retrouvées en Europe et décrites dans la littérature [1-2]. Le mycologue ayant effectué leur étude recommande la destruction totale des spores afin de ne pas modifier l'écosystème mycologique Européen. Ce cas illustre encore une fois que si Internet est un formidable outil pour la diffusion d'informations, il permet aussi en jouant sur les différentes législations internationales, l'acquisition de substances illicites non disponibles sur notre territoire.

**Références** : [1] Courtecuisse R, Deveaux M. Champignons hallucinogènes d'Europe et des Amériques : mise au point mycologique et toxicologique. Ann Toxicol Anal. 2004; 16(1): 36-64. [2] Musshoff F. et coll. Hallucinogenic mushrooms on the German market – simple instructions for examination and identification. Forensic Sci Int. 2000; 113: 389-395.

### Datura des villes et datura des champs : hallucinants l'un... et l'autre !

P. Mura, S. Chollet, B. Brunet

Service de Toxicologie et Pharmacocinétique, Centre Hospitalier Universitaire, Poitiers

**Objectif** : Déterminer les concentrations en atropine et en scopolamine dans des échantillons de *datura* provenant de plants cueillis dans des champs ou terrains vagues ainsi que dans des jardins publics urbains, aux fins d'apprécier objectivement la dangerosité des variétés ornementales.

**Méthodes** : Cinq plants d'origine « sauvage » ont été récoltés [*Datura stramonium* var. *stramonium* f. *stramonium* (n = 3), *Datura stramonium* var. *tatula* f. *bernhardii* et *Datura innoxia*] ainsi que 2 plants de *Datura wrightii* (variété ornementale). Pour chacun de ces plants, ont été étudiés les feuilles, les fleurs, les racines, ainsi que les graines et le péricarpe (sauf pour *Datura wrightii* qui n'en dispose pas). Les échantillons secs étaient pulvérisés à l'aide d'un broyeur à boulets. L'extraction des alcaloïdes était réalisée par du dichlorométhane et le résidu d'évaporation était dérivatisé par un mélange de BSTFA et de TMCS. L'étalonnage interne était effectué à l'aide de cocaïne-D3 et l'analyse était réalisée par CPG-SM.

**Résultats** : Les concentrations en alcaloïdes variaient selon les espèces, les parties de plante ou selon la période de récolte. Concernant les espèces sauvages, de très fortes concentrations en atropine étaient observées dans les feuilles (2,21 et 2,54 µg/mg) et les graines (1,08 à 4,98 µg/mg) de *Datura stramonium* var. *stramonium* f. *stramonium* mais la concentration en atropine la plus élevée (6,6 µg/mg) était retrouvée dans les graines de *Datura stramonium* var. *tatula* f. *bernhardii*. En revanche, *Datura innoxia* présentait de faibles concentrations en atropine dans toutes les parties de la plante, variant de 0,01 à 0,41 µg/mg. Pour les différentes variétés de *Datura stramonium*, les concentrations en atropine dans les feuilles et les graines étaient toujours supérieures voire très supérieures aux concentrations en scopolamine, qui variaient entre 0,65 et 0,80 µg/mg dans les feuilles et entre 0,28 et 1,80 µg/mg dans les graines. La plus forte concentration en scopolamine avec les espèces sauvages était présente dans les fleurs de *Datura innoxia* (4,52 µg/mg). Concernant les 2 plants de *Datura wrightii* (variété ornementale), l'atropine était présente dans toutes les parties de la plante analysées : 0,37 et 0,78 µg/mg dans les feuilles, 0,12 et 0,25 µg/mg dans les fleurs et 1,54 µg/mg dans les racines. Ces concentrations en atropine, quoique significatives, étaient donc plus faibles que celles observées dans les variétés de *Datura stramonium*. En revanche de fortes concentrations en scopolamine étaient retrouvées, bien supérieures à celles présentes dans les

variétés sauvages : 0,51 et 3,35 µg/mg dans les feuilles, 3,97 et 5,22 µg/mg dans les fleurs et 1,74 µg/mg dans les racines. La dose toxique de scopolamine étant de l'ordre de 4 mg, l'ingestion d'une quantité relativement faible de feuilles ou de fleurs de *Datura wrightii* serait suffisante pour provoquer l'apparition de symptômes anticholinergiques.

**Conclusion** : Nos résultats montrent que non seulement l'atropine est bien présente dans la variété ornementale *Datura wrightii*, mais aussi que la scopolamine y figure à des concentrations très élevées, bien supérieures à celles observées dans les espèces sauvages. À côté des cas d'intoxications fréquemment rapportés par les centres hospitaliers, les résultats de notre étude confirment la nécessité de bannir la plantation de telles espèces dans les jardins publics afin d'empêcher de fournir ainsi gratuitement aux toxicomanes une drogue aux effets pouvant être désastreux.

### Profils cannabinoïdes et multiélémentaires : intérêt judiciaire

Y. Barguil<sup>1,2</sup>, P. Kintz<sup>3</sup>, M. Villain<sup>3</sup>, B. Fogliani<sup>2</sup>, V. Cirimele<sup>3</sup>, E. Choblet<sup>1</sup>, E. Hnawia<sup>2</sup>, M. Nour<sup>2</sup>

<sup>1</sup>CHT-NC ; <sup>2</sup>LIVE, UNC, Nouméa, Nouvelle-Calédonie ; <sup>3</sup>ChemTox, Strasbourg

**Objectif** : Lutter efficacement contre la consommation de cannabis est une nécessité de santé et de sécurité publiques. En matière judiciaire, la réalisation de profils cannabinoïdes et multiélémentaires pourrait constituer une aide dans la résolution d'une enquête. Nous rapportons une étude réalisée en Nouvelle-Calédonie (NC).

**Méthodes** : Le THC, le CBD et le CBN ont été dosés par CPG-SM (LQ : 0,05 %) dans 3 saisies de sommités florales de cannabis provenant du domicile et du véhicule d'un revendeur habitant Nouméa niant être aussi producteur et dans 2 saisies provenant d'une plantation de 2300 pieds de la vallée de la Ouakaya, région de Houaïlou (côte Est de la NC), plantation suspectée appartenir à ce revendeur. De plus, des dosages de 33 éléments traces ont été déterminés par ICP-MS dans ces 5 saisies. Les concentrations en cannabinoïdes ont été comparées aux dosages de 108 échantillons provenant de différentes régions de NC dont 23 de la région de Houaïlou. Les concentrations en Ni, Cr et Co des saisies ont été comparées aux concentrations en ces mêmes éléments pour 13 plantes poussant sur sol ultrabasique en NC [1]. Les concentrations en Ni, Cr, Co, Cu, Mg, Zn, Cd et Pb des saisies ont été comparées aux concentrations en ces mêmes éléments pour deux plantes ne poussant pas sur sol minier : deux variétés de chiendent (rye grass « Bastogne » et rye grass « NICAP ») [2].

**Résultats** : Il existe de grandes variations des concentrations en cannabinoïdes au sein de la région de Houaïlou (THC : 0 – 11,80 %, CBD : 0 – 0,65 %, CBN : 0 – 0,11 %), ainsi qu'au sein d'une même zone dans la région (vallée de la Ouakaya, THC : 0,4 – 11,80 %, CBD : 0,02 – 0,2 %, CBN : 0,01 – 0,11 %). De même, pour une même plantation en Nouvelle-Calédonie, les concentrations en ces trois cannabinoïdes peuvent varier de façon importante. Toutefois, en comparant les valeurs obtenues de plants issus de différentes saisies provenant de la vallée de la Ouakaya avec les résultats des dosages des 5 échantillons étudiés, il existe une homogénéité des valeurs de THC, CBD et CBN des échantillons saisis chez le revendeur et des échantillons de la plantation susceptible de lui appartenir (en moyenne, THC : 2,21 vs. 1,62 %, CBD : 0,04 vs. 0,05 %, CBN : 0,02 vs. 0,02 %). Concernant l'analyse des métaux lourds, le cannabis semble se comporter de façon identique aux 13 autres plantes calédoniennes, notamment en ce qui concerne le Ni, le Cr et le Co, il reflète la richesse du sol en ces 3 éléments (valeurs maximales : 21,5, 6,71, 2,31 µg/g, respectivement). Pour le cannabis des 5 saisies, les variations des concentrations en ces 3 éléments sont très faibles (par exemple, Ni : 18,7 +/- 2,1 µg/g, soit +/- 11 %) comparées aux variations rapportées (+/- 50 % pour le Ni, le Cr ou le Co) pour une même autre espèce de plante [1]. Le cannabis calédonien des 5 saisies se distingue du chiendent par des concentrations comparativement élevées en Co, Ni et Cu (en moyenne : 1,24 vs. 0,37, 15,49 vs. 2,21, 13,6 vs. 8,13 µg/g, respectivement). En comparant

les profils multiélémentaires (33 éléments traces) des 5 saisies, il existe là aussi des similitudes entre les 5 échantillons.

**Conclusions** : En l'absence de variations importantes, la comparaison pour le cannabis, de profils multiélémentaires permettrait de déterminer si des échantillons proviennent de la même culture. Associés au dosage des 3 principaux cannabinoïdes (THC, CBD et CBN) et après avoir constitué une bibliothèque de profils cannabinoïdes, ces dosages alimentent un faisceau de présomptions et apportent une aide précieuse dans la résolution d'une enquête judiciaire.

**Références** : [1] Jaffré T. et coll. Cah ORSTOM, sér Biol. 1976; 11: 53-63. [2] Hoenig M. et coll. J Anal At Spectrum. 1998; 13: 195-199.

### Nouveaux cas d'intoxications par le GHB et/ou la GBL

G. Pépin, M. Chèze, G. Hoizey, A. Lenoan-Muckenstur, M. Deveaux  
Laboratoire TOXLAB, Paris

**Objectif** : Décrire de nouveaux cas d'intoxication au gamma-hydroxybutyrate (GHB) et/ou à la gamma-butyrolactone (GBL), diagnostiqués en 2007-2008 dans trois catégories d'analyses médico-judiciaires (accidents de la circulation, usage récréatif mortel ou non usage, analyse de produits saisis) et donner les concentrations de GHB retrouvées dans le sang, l'urine, les phanères et les produits.

**Introduction** : Neuromédiateur endogène, le GHB est utilisé sous surveillance médicale en anesthésie (par voie I.V., liste I) et de façon illicite (par V.O., stupéfiant) comme désinhibiteur en usage récréatif. Il est rarement utilisé pour la soumission chimique. Son précurseur chimique, la GBL est également utilisée comme alternative au GHB en usage récréatif.

**Patients et Méthodes** : **1)** Accidents de la circulation : Cas#1 ingestion de GHB 15 min avant de prendre le volant, endormissement très brutal et accident. Prélèvement de sang. **2a)** Usage récréatif en groupe, non mortel : Cas#2 et #3 consommateurs habituels de cocaïne et cannabis, essayent le GHB fourni par un ami, instauration rapide d'un coma, hospitalisation. Prélèvements de sang, d'urine et de cheveux. **2b)** Usage récréatif individuel, mortel : Cas#4 consommateur habituel de cocaïne et de cannabis, ingestion de GBL. Prélèvements de sang et d'urine. Cas#5 ingestion d'au moins 130 mL de GBL et d'alcool. Prélèvements de sang, d'urine et de poils pubiens. Cas#6 consommateur habituel de cocaïne, ingestion de GHB ou de GBL et usage de chlorure d'éthyle. Prélèvements de sang. Cas#7 consommateur habituel de cocaïne, ingestion de GHB ou de GBL. Prélèvement de sang. **3)** Analyses de produits saisis : Cas#5 flacon de 500 mL de MagicStripper®. Cas#8 seringue vide et flacon de 30 mL, présence de poppers.

Les dosages dans les liquides biologiques ont été effectués par CPG-SM après extraction en milieu acide et dérivation, avec le GHB-d6 comme standard interne. Dans les phanères, la CPG-SM/SM a été utilisée après sonication dans le mélange MeOH/H<sub>2</sub>O.

**Résultats** : Les concentrations de GHB sont les suivantes. **1)** Intoxications non mortelles : Cas#1 sang : 150 mg/L ; Cas#2 sang : 158 mg/L, urine 274 mg/L, analyse segmentaire des cheveux : pic à 9,8 ng/mg ; Cas#3 sang : 74 mg/L, urine : 145 mg/L, analyse segmentaire des cheveux : pic à 9,6 ng/mg. **2)** Intoxications mortelles : Cas#4 sang 285 mg/L, urine 1276 mg/L ; Cas#5 sang 815 mg/L, urine : 308 mg/L, poils pubiens : 62 ng/mg ; Cas#6 sang 575 mg/L ; Cas#7 sang : 314 mg/L. **3)** Produits saisis : Cas#5 flacon : GBL pure ; Cas#8 flacon : GBL pure, seringue : GBL.

**Discussion et Conclusion** : Les concentrations physiologiques de GHB chez le vivant établies sont < 5 mg/L dans le sang, < 10 mg/L dans l'urine, et vont de 0,5 à 12 ng/mg dans les cheveux dans les segments distaux. Les concentrations normales dans le sang *post mortem* sont < 50 mg/L. Nous avons donc pu parfaitement conclure que les intoxications graves et mortelles observées étaient dues au GHB ou à la GBL. Aucun autre psychotrope n'avait été retrouvé dans le sang à concentration suffisante pour être impliqué dans le processus mortel. La mise en cause de la GBL ne peut se faire que si l'on

pratiquée simultanément l'analyse des produits saisis, quant ils le sont. Or elle semble maintenant de plus en plus utilisée, car sa vente n'est pas encore réglementée. On remarquera les volumes importants des conditionnements de GBL. En un an nous n'avons retrouvé qu'un seul cas de conduite automobile sous l'influence du GHB.

## Conduite automobile

### Stabilité des cannabinoïdes dans le sang *in vitro* : étude sur 318 prélèvements par la commission de travail SFTA « Conduites addictives »

B. Brunet<sup>1</sup>, M. Villain<sup>2</sup>, P. Mura<sup>1</sup> et la commission Conduites addictives  
<sup>1</sup>Laboratoire de Toxicologie et Pharmacocinétique, Centre Hospitalier Universitaire, Poitiers ; <sup>2</sup>Laboratoire ChemTox, Illkirch

**Objectif** : La connaissance de la stabilité des cannabinoïdes dans le sang *in vitro* est un point crucial pour l'interprétation d'un résultat de contre-expertise ou d'une expertise réalisée avec délai. Cette étude de la commission conduites addictives a eu pour but de tester différentes conditions de conservation (contenant, température, additif) sur des échantillons de sang authentiques contenant des cannabinoïdes. La stabilité de chaque analyte (THC, 11-OH-THC et THC-COOH) a été évaluée jusqu'à 12 mois de conservation.

**Méthodes** : 15 laboratoires se soumettant à un contrôle de qualité externe pour le dosage des stupéfiants dans le sang ont participé à cette étude dans laquelle 318 prélèvements sanguins ont été inclus générant plus de 1 750 résultats pour les trois analytes dosés. Différents paramètres ont été testés tels que le contenant : tube en verre ou en plastique ; l'additif : fluorure de sodium ou héparinate de lithium ainsi que la température de conservation : + 4 °C ou - 20 °C. Chaque prélèvement a été analysé deux fois, avant et après conservation pendant une durée de 1 à 12 mois.

**Résultats** : La majorité des laboratoires participants utilisent la GC-MS comme instrument d'analyse et la limite de quantification la plus fréquente pour le THC est de 0,5 ng/mL de sang total. L'évolution globale tous paramètres confondus montre une baisse régulière et importante en fonction du délai de conservation (en pourcentage de THC restant à la seconde analyse), soit 80,0 % de THC restant après 1 mois de conservation puis 67,3 % après 2 mois, 65,1 % après 3-5 mois, 60,2 % après 6-11 mois et 53,6 % après 12 mois ou plus. L'évolution pour le 11-OH-THC est similaire alors que le THC-COOH est stable avec des pourcentages de THC-COOH restant à la seconde analyse de plus de 95 % après plus de 12 mois de conservation. Parmi les paramètres testés, le contenant, verre ou plastique, n'a pas d'influence sur la stabilité du THC. Pour un délai moyen de conservation de 5,6 mois, la conservation du THC est meilleure avec l'héparinate de lithium comme additif (65,2 % de THC restant contre 56,6 % avec le fluorure de sodium). La conservation à + 4 °C semble la mieux adaptée (85,9 % de THC restant contre 59,8 % après conservation à - 20 °C). Cependant les effectifs (N = 45 pour la conservation à + 4 °C et N = 248 pour la conservation à - 20 °C) ainsi que les délais moyens de conservation (3,3 mois pour les prélèvements conservés à + 4 °C et 6,1 mois pour les prélèvements conservés à - 20 °C) très différents pour ce paramètre peuvent représenter un biais. Il est intéressant de noter que parmi les différents laboratoires participants certains obtiennent des résultats très satisfaisants (plus stables) par rapport à la moyenne des autres laboratoires. Certaines pratiques propres à chaque laboratoire pourraient avoir une influence bénéfique ou néfaste sur le résultat des analyses comme par exemple la congélation immédiate dès réception du tube avant la première analyse, l'utilisation d'un réactif de précipitation ou encore l'utilisation d'une technique d'extraction hydrolysant les glucuronides.

**Conclusion** : Selon les résultats cette étude, le prélèvement permettant la meilleure conservation des cannabinoïdes est un tube en verre ou plastique contenant de l'héparinate de lithium et conservé à + 4 °C sans jamais avoir été

congelé. Ces conditions de conservation n'ayant pas été les plus fréquentes durant l'étude, la commission « Conduites addictives » de la SFTA a décidé de poursuivre les expérimentations avec ces conditions particulières.

### Résultats complémentaires pour l'étude de stabilité des cannabinoïdes dans le sang : données d'un laboratoire sur le tétrahydrocannabinol (THC) et son métabolite carboxylique (THC-COOH) dosés par HPLC/MS/MS

B. Lelievre, A. Le Bouil, Y. Mauras, B. Diquet, A. Turcant

Département des agents infectieux et de Pharmaco-Toxicologie, CHU 49933 Angers

**Objectif** : L'étude de stabilité des dérivés du cannabis dans les prélèvements de sang effectués suite à un accident de la route ou à un contrôle routier a été envisagée par la commission « Conduites addictives » de la SFTA. L'étude monocentrique ci-après s'attache à présenter des données complémentaires qui sont à verser aux travaux de la commission.

**Matériels et méthodes** : Les échantillons de sang obtenus suite à un dépistage urinaire ou salivaire positif pour le cannabis (73 tubes héparinés, 8 flacons sur fluorure de sodium) ont été fractionnés en 3 aliquotes A, B, C (tubes secs de type « Z ») dès l'arrivée au laboratoire. Le tube A est soit dosé (n = 32), soit congelé (n = 49) avant dosage dans les 72 h. Le tube B est congelé et le tube C conservé en chambre froide à 4 °C maximum. Les 3 tubes sont à nouveau dosés le même jour, avec des délais variables selon les échantillons. La méthode de dosage est l'HPLC/MS/MS après extraction liquide-liquide de 0,5 mL de sang en milieu tamponné à pH 4 par un mélange hexane-acétate d'éthyle (80/20). Le résidu d'évaporation est repris dans 100 µL de méthanol et 20 µL sont injectés. Les limites de quantification sont respectivement de 0,5 µg/L et 2 µg/L pour THC et THC-COOH.

**Résultats** : 70 échantillons sont initialement positifs en THC (0,5 - 11 µg/L dont 33 ≤ 2 µg/L) et 77 en THC-COOH (2,6-200 µg/L dont 8 ≤ 5 µg/L). Le délai médian entre les dosages est de 3 mois (extrêmes : 1 - 5 mois, dont 3 échantillons ≥ 4 mois). Les tableaux ci-dessous présentent les effectifs (n) en fonction des variations de concentration (Δ % du dosage initial).

THC Δ %	< - 60 %	- 60 à - 20 %	- 20 à + 20 %	20 à 60 %	> 60 %
<b>Tube A (n)</b>	15	12	36	4	0
<b>Tube B (n)</b>	10	6	45	8	1
<b>Tube C (n)</b>	1	2	42	19	1

THC-COOH Δ %	< - 60 %	- 60 à - 20 %	- 20 à + 20 %	20 à 60 %	> 60 %
<b>Tube A (n)</b>	0	2	67	5	0
<b>Tube B (n)</b>	0	4	70	3	0
<b>Tube C (n)</b>	0	0	29	35	7

Une légère augmentation de la concentration en THC est observée à 4 °C (médiane 6 %). Après congélation, une diminution est observée (médianes respectivement de - 11 % et - 6 % pour A et B). La concentration de THC-COOH est stable à - 20 °C tandis qu'une augmentation des valeurs est observée à 4 °C (médiane 23 %).

**Discussion** : Après décongélation unique ou répétée, les échantillons sanguins présentent des valeurs en THC qui peuvent être beaucoup plus faibles que les valeurs initiales. Ce phénomène est rarement observé à 4 °C. La perte de THC pourrait être due à une dégradation par choc thermique ou à une dégradation de substances endogènes liant le THC associée à une adsorption possible du THC sur le verre. Cependant, la mise en évidence d'une corrélation entre cette baisse et les conditions de conservation (température et délai) nécessiterait un effectif et une durée d'étude plus importants. L'augmentation du THC-COOH à + 4 °C est plus importante lorsque le délai est supérieur ou égal à 3 mois ( $\chi^2$ , p < 0,01) et pourrait être due à une hydrolyse des dérivés glucuroconjugés.

### Incapacité matinale à la conduite automobile chez les personnes âgées le lendemain d'une prise unique d'un médicament hypnotique type zolpidem ou zopiclone

A. Coquerel<sup>1,2</sup>, M.L. Bocca<sup>2,3</sup>, V. Lelong-Boulouard<sup>1,2</sup>, M. Loilier<sup>1,2</sup>, F. Bertran<sup>3</sup>, C. Couque<sup>3</sup>, T. Desfemmes<sup>3</sup>, S. Marie<sup>2</sup>, C. Berthelon<sup>4</sup>, M. Moessinger<sup>5</sup>, P. Denise<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Lab. Pharmacologie – Toxicologie, CHU de Caen ; <sup>2</sup>Université de Caen, EA 3917 – Inserm ESPRI ; <sup>3</sup>Neurophysiologie, CHU de Caen ; <sup>4</sup>INRETS-MA ; <sup>5</sup>LAB Renault-PSA

**Objectif** : Les personnes âgées (PA) représentent une part croissante des conducteurs ces dernières décennies. Par ailleurs, les PA se plaignent souvent de troubles du sommeil et de fait peuvent être amenées à consommer un médicament hypnotique. Ces dernières années la communauté européenne a promu un nombre croissant d'études sur l'aptitude à la conduite après prise de psychotropes afin de prévenir les risques d'accident de la voie publique. Habituellement les tests de tolérance aux hypnotiques et donc l'étude d'éventuels effets résiduels sur l'aptitude à la conduite sont réalisés chez des sujets jeunes, en bonne santé et qui ne consomment aucun médicament ou substance psychoactive. Le sujet de ce travail est de déterminer si chez des PA (55 à 65 ans) la prise unique d'un hypnotique courant comme le zolpidem (Zp), la zopiclone (Zc) ou une benzodiazépine d'action rapide, le flunitrazépam (Fln) *versus* un placebo (Pcb) entraîne des effets résiduels. Ceux-ci ont été mesurés par (a) une aptitude à la conduite automobile sur simulateur, en situation monotone (b) altère l'architecture du sommeil (c) montre des concentrations résiduelles matinales pour ces divers hypnotiques lors du test de conduite.

**Méthodes** : 16 sujets sains, âgés de 55 à 65 ans. Aucun n'était consommateur d'hypnotique ou de médicament sédatif. Chacun d'eux a pris, à 23 h, la veille d'une session de tests une dose standard de l'un des quatre produits soit Zp (10 mg), Zc (7,5 mg), Fln (1 mg) ou Pcb. L'étude a été faite en double aveugle avec ordre aléatoire des traitements, chaque session étant séparée de 8 jours au moins. Le test de conduite a été effectué sur écran pendant une heure. La qualité de la conduite était mesurée par la déviation standard par rapport à la position latérale (SDLP, m) la déviation standard de la vitesse demandée (SDS) et les sorties de route (RE,n).

**Résultats** : (a) Zp et Zc augmentent significativement les SDLP ( $p < 10^{-5}$ ), la SDS ( $p < 0,01$ ) et le nombre de sorties de route (RE+,  $p < 0,05$ ). Il n'a pas été observé d'effet avec le Fln. ; (b) les 3 hypnotiques accroissent la latence du sommeil paradoxal (latence du REM) :  $p < 0,01$ , et la durée totale du sommeil ( $p < 0,04$ ) et diminuent le nombre des réveils après la première phase de sommeil ( $p < 0,04$ ) ; (c) plus de 30 % de sujets ont des concentrations résiduelles de Zc ou Zp lors du test de conduite en particulier pour Zp de nombreux individus ont encore des concentrations significatives après le test de conduite ( $n = 11/16 >$  valeur seuil de 15  $\mu\text{g/L}$  ; moyenne  $\pm$  SEM à 9 h et à 14 h respectivement =  $69 \pm 17$  et  $41 \pm 10 \mu\text{g/L}$ ).

**Conclusion** : Le principal résultat est la fréquence d'effets résiduels après prise unique de Zp chez des PA en bonne santé, plus de 10 heures après la prise. Ceci est en opposition avec nos constats antérieurs chez des sujets jeunes [1]. Les effets résiduels sont pour partie liés à des particularités pharmacocinétiques en relation avec l'âge mais aussi à des effets pharmacodynamiques puisque certaines altérations des tests s'observent sans concentration sanguine résiduelle significative pour ces hypnotiques. Ces résultats suggèrent des risques d'AVP chez des PA prenant occasionnellement un hypnotique, la veille de la conduite prolongée d'un véhicule. On peut s'interroger sur la révision des posologies pour les personnes de plus de 55 ans (ce fut le cas dans le passé pour le Triazolam) et la nécessité de faire des études spécifiques pour les PA, tant comportementales que pharmacocinétiques.

**Référence** : Bocca ML et al. Psychopharmacology. 1999; 143: 373-379.

### Les contrôles systématiques avec dépistage de drogues au bord de la route : revue de la littérature de l'expérience australienne

A. Verstraete

Laboratoire de biologie clinique, Hôpital Universitaire, Gent, Belgique

**Objectif** : Depuis juillet 2008, les dépistages salivaires de drogues chez les conducteurs sont possibles en France. D'autres pays, comme l'Espagne, la Finlande et le Portugal les utilisent également. Les contrôles systématiques sont effectués dans l'état de Victoria en Australie depuis fin 2004 [1,2] et il nous a semblé utile d'étudier l'expérience australienne.

**Méthodes** : Étude de la littérature, participation au National Institute of Forensic Science-Sponsored Oral Fluid Workshop, où les toxicologues des différents états ont présenté leurs expériences et à un contrôle routier à Melbourne en octobre 2008.

**Résultats** : Les contrôles routiers par dépistage salivaire ont commencé dans l'état de Victoria à la fin de 2004. L'objectif était de dissuader la conduite sous influence des drogues, et de diminuer les risques d'accident. Deux tests de dépistage sont utilisés. D'abord le Securetec Drugwipe<sup>®</sup> pour le dépistage de la méthamphétamine, de la MDMA et du THC (résultat en 5 minutes). Si ce test est positif, le conducteur est amené à un « drug bus » spécialement aménagé, ou un second test rapide, le Cozart<sup>®</sup> RapiScan est effectué. Si le conducteur ne peut pas produire assez de salive (1 mL) en ~ 20 min, une prise de sang est effectuée. Si le deuxième test est également positif, l'échantillon dilué qui reste dans le Cozart<sup>®</sup> RapiScan est divisé en deux. Le conducteur récupère la moitié et l'autre moitié est envoyée au Victorian Institute for Forensic Medicine pour analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). Il n'y a pas de seuils officiels ; si une drogue est détectable par le laboratoire, le conducteur est sanctionné : une amende de 330 dollars australiens (équivalent environ à 200 euros) + 10 points 'demerit'. Environ 20 000 tests sont effectués par an (population de 5,2 millions). Environ 1,7 % (1 195/71 380) des conducteurs sont positifs. Le pourcentage de positifs diminue chaque année entre 2005 et 2008 : 2,28 %, 1,74 %, 1,68 % et 1,31 %. Très peu de faux positifs ont été observés : 15/65 000. Quatre autres états ont une législation similaire : la Nouvelle Galles du Sud (début fin 2006 ; 14 850 tests effectués, 394 positifs), l'Australie du Sud (début en 2006, 23 242 tests, 565 positifs), le Queensland (début fin 2007, 6 000 tests, 100 positifs), l'Australie de l'Ouest (début fin 2007, 7 757 tests, 355 positifs) et la Tasmanie (début juillet 2005, 1 132 tests, 334 positifs dans le sang). Le plupart des positifs le sont pour la méthamphétamine, suivie par le cannabis et la MDMA. Dans l'état de Victoria, il y a des signes que le comportement des conducteurs commence à changer : 33 % des utilisateurs de drogues déclarent que les contrôles systématiques ont changé leur comportement (ils évitent de prendre des drogues avant de conduire) et les pourcentage d'utilisateurs de drogues qui déclarent conduire sous influence a diminué de 45 à 35 %.

**Conclusions** : Les contrôles systématiques de drogues au bord de la route sont effectués dans tous les états (mais pas dans les territoires) australiens. La procédure est similaire à celle du Victoria, sauf en Tasmanie. Plus de 100 000 tests ont été effectués et le pourcentage de positifs varie entre 1,7 et 4,5 %. Très peu de faux positifs sont observés.

**Références** : [1] Drummer O.H. et coll. Drugs in oral fluid in randomly selected drivers. Forensic Sci Int. 2007; 170(2-3): 105-10. [2] Boorman M. et coll. The Victorian legislative framework for the random testing drivers at the roadside for the presence of illicit drugs : an evaluation of the characteristics of drivers detected from 2004 to 2006. Traff Inj Prev. 2009; 10(1): 16-22.

## Toxicologie judiciaire

### Soumission chimique au Rivotril® : victime et/ou consommatrice ?

F. Aknouche, T. Besnard, V. Maignant, R. Buti, H.P. Duval  
Laboratoire DUVAL-MAGGI-AKNOUCHE, Antibes

**Objectif :** Nous rapportons ici le cas d'une exposition au clonazépam (Rivotril®) chez une jeune femme. L'analyse des cheveux prélevés à J3 sur cette dernière a révélé la présence du 7-aminoclonazépam, métabolite du clonazépam. Nous étions donc tentés dans un premier temps de remettre en cause la véracité des propos de la jeune femme. C'est grâce à l'ensemble des investigations analytiques qu'il a été possible de trancher.

**Cas médico-légal :** Une femme de 23 ans se retrouve chez elle, sans souvenir, le visage couvert de sang et désorientée. La veille, elle était en compagnie d'un inconnu dans sa voiture. Elle se souvient d'avoir bu un verre de jus d'orange dans lequel flottaient des dépôts blanchâtres. À J3, elle porte plainte et des prélèvements de sang et de cheveux sont réalisés à l'hôpital. Ses vêtements et sous-vêtements sont conservés et analysés. À M6, des prélèvements capillaires sont effectués chez la victime mais aussi chez le suspect présumé.

**Méthodes :** Les analyses sanguines ont été effectuées par technique immunologique, CL-SM/SM et CPG-SM à trappe d'ions. L'extraction, pour l'analyse chromatographique, a été réalisée en liquide/liquide en milieu acide puis alcalin avec du chloro-1-butane. L'identification et la recherche a été faite par CPG-SM à trappe d'ions et CL-SM/SM. Le prélèvement capillaire à J3 chez la victime supposée a été réalisé sur quelques cheveux bruns, en vrac, non orientés racine – pointe. L'échantillon a été décontaminé et coupé en fragments d'1 mm puis incubé avec de la soude 1 N à 95 °C pendant 15 minutes. Le 7-aminoflunitrazépam a été utilisé comme étalon interne. Les prélèvements capillaires à M6 ont été analysés de façon similaire, par segmentation. La recherche de sperme sur le string a été réalisée après humidification et ensuite analyse au microscope optique et révélation par le test de Florence. Les taches retrouvées sur le pantalon de la jeune femme ont été analysées après découpe en plusieurs morceaux du vêtement et analyse identique à celle du sang.

**Résultats :** La recherche de sperme s'est avérée négative. L'analyse des tâches sur le pantalon a révélé la présence de clonazépam, confirmé dans le sang par la présence du 7-aminoclonazépam (37 ng/mL). L'analyse capillaire à J3 a mis en évidence du 7-aminoclonazépam à 105 pg/mg. Le prélèvement à M6 a donné les résultats suivants chez la jeune femme : 13 pg/mg (0-4 cm), 28 pg/mg (4-8 cm) et 15 pg/mg (8-12 cm) en 7-aminoclonazépam. Chez le suspect, les taux étaient de 1 pg/mg (0-2 cm), 8 pg/mg (2-4 cm), 46 pg/mg (4-6 cm) et 90 pg/mg (6-8 cm).

**Conclusion :** Malgré l'anamnèse, le dossier médical de la victime et les antécédents judiciaires de l'agresseur supposé, lui-même consommateur, l'interprétation de l'analyse capillaire a été délicate. La présence dans le sang du 7-aminoclonazépam, à J3, et l'identification du clonazépam sur le pantalon de la victime, a permis d'attester d'une exposition au Rivotril® au moment des faits. Au final, l'agresseur récidiviste a été condamné à quatre ans de prison ferme, avec suivi médical obligatoire et inscription au fichier des délinquants sexuels.

**Références :** [1] Chèze M. et coll. Forensic Sci Int. 2005; 153(1): 3-10.

### Interprétation des analyses de cheveux chez les enfants exposés à la méthadone

P. Kintz, M. Villain, V. Cirimele  
Laboratoire ChemTox, 3 rue Gruninger, F-67400 Illkirch, France

**Objectif :** L'utilisation de la méthadone n'est pas autorisée chez l'enfant, à l'exclusion du traitement du syndrome de manque à la naissance. Pendant les 2 dernières années, notre laboratoire a reçu pour analyse des échantillons

de cheveux d'enfants admis inconscients à l'hôpital (n = 4) avec de la méthadone retrouvée dans le sang ou décédés (n = 2) dans un contexte de surdosage. Dans les 6 cas, les analyses ont révélé des concentrations très proches dans les différents segments consécutifs. C'est pourquoi, le risque de contamination a été évalué et discuté.

**Méthode :** Après double décontamination par le dichlorométhane et segmentation, les cheveux ont été découpés en petits fragments et incubés toute la nuit à 40 °C dans un tampon phosphate à pH 9,5. Après extraction liquide-liquide, la méthadone et l'EDDP ont été dosés par LC-MS/MS, en utilisant 2 transitions par composé. La limite de quantification (LOQ) a été fixée à 0,01 ng/mg.

**Résultats :** Les résultats suivants ont été obtenus :

Enfants admis à l'hôpital

- cas 1 : 4 × 1 cm section, méthadone à 0,05-0,08 ng/mg, EDDP < LOQ
- cas 2 : 4 × 1 cm section, méthadone à 0,13-0,15 ng/mg, EDDP à 0,02 ng/mg
- cas 3 : 3 × 1,5 cm section, méthadone à 0,07-0,09 ng/mg, EDDP à 0,01-0,03 ng/mg
- cas 4 : 6 × 2 cm section, méthadone à 0,06-0,13 ng/mg, EDDP à 0,02-0,03 ng/mg

Enfants décédés

- cas 5 : 2 × 2 cm section, méthadone à 0,53-0,58 ng/mg, EDDP < LOQ
- cas 6 : 4 × 1 cm section, méthadone à 0,44-0,77 ng/mg, EDDP à 0,04-0,06 ng/mg

Toutes les concentrations mesurées sont faibles, en particulier quand elles sont comparées à celles chez des patients en substitution (5 à 40 ng/mg). Plus surprenante est la relative homogénéité des concentrations entre les différents segments d'un même sujet, pouvant suggérer une contamination externe et rendant de ce fait difficile l'interprétation des résultats.

**Discussion :** À la question « les enfants ont-ils été empoisonnés par la méthadone ? », les éléments suivants permettent une approche scientifique de la réponse :

- au moments des faits, les enfants ont été exposés à la méthadone ;
- les enfants vivaient dans une maison où de la méthadone était utilisée ;
- les résultats des analyses de cheveux peuvent mettre en évidence une exposition répétée à la méthadone, sans qu'il soit possible d'établir une fréquence d'exposition ;
- les concentrations mesurées peuvent correspondre à la somme de celles résultant d'un passage systémique et de celles résultant d'une contamination externe par la sueur ou les fluides biologiques.

**Conclusion :** Dans ces 6 cas, il n'a pas été possible d'établir de façon formelle qu'il avait été délibérément administré de la méthadone aux enfants. Les résultats sont compatibles avec un environnement familial où circulait de la méthadone qui n'était pas consommée et conservée de manière appropriée. Des concentrations segmentaires très proches le long d'une mèche de cheveux peuvent indiquer une contamination directe avec la méthadone, mais aussi par les fluides biologiques, dont la sueur. À cet effet, la présence d'EDDP n'est pas discriminante puisque ce métabolite se retrouve également dans le sang, les urines et la sueur. En conséquence, la seule mesure de la méthadone et de l'EDDP dans les cheveux n'est pas suffisante pour caractériser une exposition répétée.

### Contamination externe ou consommation massive de codéine ? Difficulté d'interprétation de dosages de codéine dans les cheveux à propos d'un cas

F. Laborie Charvier, A. Eyquem, V. Dumestre-Toulet  
Laboratoire TOXGEN, Bordeaux

**Introduction :** Une analyse toxicologique est requise sur les prélèvements d'autopsie d'une jeune fille de 19 ans découverte dans une chambre d'hôtel, couverte d'ecchymoses. Le médecin légiste attribue le décès aux coups portés

par son compagnon. À l'issue des premières analyses, une exposition majeure à la codéine est mise en évidence, avec des concentrations compatibles avec la survenue du décès. L'analyse d'une mèche de cheveux segmentée indique une concentration élevée et régulière de codéine (de 6,9 à 14 ng/mg) qui ne semble pas concorder aux faits. Une contamination externe des cheveux est envisagée malgré la réalisation des lavages selon les protocoles habituels [1].

**Objectif :** Mettre en évidence une éventuelle contamination après mise en place de lavages supplémentaires des cheveux et analyse des phases de lavage. Étudier la décontamination de cheveux surchargés en codéine au laboratoire et comparer les résultats.

**Méthodes :** Les cheveux ont été surchargés par incubation d'une mèche pendant une nuit à température ambiante dans une phase aqueuse contenant 0,13 mg/mL de codéine.

Les cheveux sont décontaminés par 2 bains successifs de dichlorométhane. Ces phases de lavages sont analysées par immunochimie avec une trousse ELISA (IDS) (cut-off : 20 ng/mL) et CPG/SM avec une limite de détection de 10 ng/ml après dérivation par BSTFA/TMCS 1 %.

Les cheveux décontaminés sont segmentés (1 à 2 cm) puis fragmentés aux ciseaux selon les procédures développées au laboratoire en suivant le consensus de la SOHT [2]. Après hydrolyse acide à 56 °C pendant une nuit une extraction triple liquide est réalisée. Les extraits sont analysés par CPG/SM après dérivation. La limite de quantification est de 0,5 ng/mg de cheveux.

**Résultats :** Aucune des phases de lavage des cheveux de la jeune fille n'est positive pour la codéine. Les analyses de cheveux montrent en plus de la codéine, la présence de paracétamol dans tous les segments. Morphine et norcodéine, métabolites de la codéine ont été recherchés. Les analyses des phases de lavage des cheveux surchargés sont positives jusqu'au 19<sup>ème</sup> lavage. Les analyses des segments de cheveux surchargés donnent après 5 lavages des concentrations en codéine comprises entre 26 et 44 ng/mg. Les analyses de cheveux de sujets analysés au laboratoire dans le cadre d'expertise et positifs dans le sang pour la codéine, présentent des concentrations de codéine comprises entre 0,6 et 8,2 ng/mg de cheveux.

**Conclusion :** L'analyse du dossier médical de la jeune fille, saisi par le Juge d'Instruction, indique une consommation régulière voire excessive d'analgésiques de type paracétamol codéiné depuis plus d'un an en traitement de douleurs osseuses et articulaires. Ceci explique les résultats surprenants. Une contamination externe des cheveux a néanmoins été évoquée et l'étude de surcharge réalisée montre que l'étape pré-analytique de décontamination avant analyse est d'une importance majeure, en particulier pour la codéine, que les phases de lavage doivent toujours être analysées et négatives pour qu'un résultat d'analyses de cheveux soit validé.

**Références :** [1] Kintz P. Analytical and practical aspects of drug testing in hair. Boca Raton : CRC Press, 2006. [2] Recommendations for Hair Testing in Forensic Cases SOHT – [http://www.soht.org/pdf/Consensus\\_on\\_Hair\\_Analysis.pdf](http://www.soht.org/pdf/Consensus_on_Hair_Analysis.pdf).

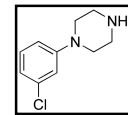
### Intoxication fatale impliquant la mCPP. Détection par CLHP-SM/SM dans les fluides biologiques

A.C. Cuque<sup>1,2</sup>, L. Romeuf<sup>1</sup>, A. Boucher<sup>3</sup>, J.M. Prevosto<sup>4</sup>, J.M. Menard<sup>5</sup>, C. Lemeur<sup>1</sup> et Y. Gaillard<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'Analyses Toxicologiques LATLUMTOX, La Voulte et Lyon ; <sup>2</sup>École du Service de Santé des Armées, Bron ; <sup>3</sup>Centre d'Évaluation et d'Information sur la Pharmacodépendance, Lyon ; <sup>4</sup>Fédération de Biochimie, Hôpital d'Instruction des Armées Desgenettes, Lyon ; <sup>5</sup>Institut Médico-Légal, Hôpital Pasteur, Nice

**Objectif :** Rapporter un cas d'intoxication fatale à la metachlorophenylpiperazine (mCPP) : décès en quelques heures d'un jeune homme asthmatique de 20 ans, cocaïnomanes et consommateur régulier de MDMA (ecstasy).

**Méthode analytique :** Le dosage est réalisé en CLHP/SM<sup>2</sup> sur une colonne C<sub>18</sub> au moyen d'un gradient acétonitrile-tampon formate pH = 3,0. L'étalon interne est le prazépam. L'extraction en phase liquide est obtenue au moyen de Toxi-Tube A<sup>®</sup> avec un rendement d'extraction de 86 % à 5 ng/mL. Le coefficient de variation de l'étude de reproductibilité (n = 10) est de 14,5 % à 5 ng/mL et de 6,9 % à 100 ng/mL, tandis que la limite de quantification dans le sang total est de 1,4 ng/mL.



**Résultats :** La mCPP a été détectée aux concentrations de 15,0 ng/mL dans les urines ; 5,1 ng/mL dans la bile et 0,3 ng/g dans le foie (dosage en UPLC-SM<sup>2</sup>). L'analyse des cheveux du jeune homme, correspondant à une période de 10 mois environ, n'a pas permis de détecter de mCPP (LoD = 0,05 ng/mg). Au contraire, des concentrations importantes de MDMA (en moyenne de 21,5 ng/mg), de cocaïne et de leurs métabolites ont été mises en évidence dans les prélèvements capillaires.

**Discussion :** Le patient ayant bénéficié de soins de thanatopraxie avant l'autopsie, les valeurs retrouvées ont très vraisemblablement été sous-estimées dans une proportion impossible à définir. Le jeune homme est décédé après ingestion, le matin même, d'un demi-comprimé blanc incrusté d'un logo « soleil souriant », ressemblant fortement à un comprimé d'ecstasy et vendu en tant que tel. L'analyse des prélèvements capillaires démontre, sur une période de 10 mois environ, une utilisation chronique de MDMA, et une consommation faible mais régulière de cocaïne et l'absence de mCPP : l'hypothèse d'une première administration est mise en avant. L'autopsie n'est pas contributive, ni les examens histologiques et microscopiques. Le reste de la toxicologie est sans particularisme. Il est vraisemblable que les antécédents médicaux d'asthme allergique et l'absorption régulière de deux substances stupéfiants, MDMA et cocaïne, inhibitrices irréversibles de l'isoforme 2D6 du cytochrome P450 (isoforme responsable de la biotransformation de la mCPP en son métabolite inactif) [1] aient potentialisé la toxicité de la mCPP. Par exclusion des autres évènements, la mCPP est considérée comme étant l'élément qui aura déclenché l'état de mal asthmatique conduisant au décès du patient.



**Référence :** [1] Staack RF, Paul LD, Schmid D, Roeder G, Rolf B. Proof of a 1-(3-chlorophenyl)piperazine (mCPP) intake-Use as adulterant of cocaine resulting in drug-drug interactions? J Chromatogr B. 2007; 855: 127-133.

### Intérêt des prélèvements narinaires *post mortem* dans les intoxications aux opiacés

F. Bevalot<sup>1,2</sup>, N. Hubert<sup>3</sup>, N. Cartiser<sup>1,2</sup>, C. Le Meur<sup>1,2</sup>, J.L. Chopard<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire LUMTOX, Lyon ; <sup>2</sup>Institut de médecine légale de Lyon, Université Lyon 1, Lyon ; <sup>3</sup>Service de médecine légale de Besançon, Université de Franche Comté

**Objectifs :** L'objectif de cette étude était d'analyser des prélèvements narinaires *post mortem* dans les cas d'intoxications aux opiacés afin de déterminer dans quelle mesure cette analyse pouvait se révéler informative.

**Introduction :** Malgré l'intérêt de la voie d'administration nasale en thérapeutique et pour les toxicomanes, l'analyse toxicologique des prélèvements narinaires *post mortem* a fait l'objet de rares études. D'après la littérature, l'analyse de ce prélèvement présente généralement peu d'intérêt. Nous présentons trois cas autopsiques d'intoxication aux opiacés pour lesquels l'analyse toxicologique des prélèvements nasals s'est révélée informative.

**Méthodes :** Au cours de l'autopsie médico-légale de 3 sujets masculins âgés de 17, 28 et 47 ans suspectés d'usage de stupéfiants, ont été réalisés des prélèvements sanguins, urinaires et nasals (2 écouvillonnages latéralisés par narine). Les écouvillons sont soumis aux ultrasons 10 minutes dans 2 mL d'eau. Ces extraits aqueux ainsi que l'urine et le sang sont purifiés par toxitube A<sup>®</sup> puis analysés par GC/MS pour un dépistage toxicologique large et une recherche spécifique des opiacés et cocaïniques.

**Résultats :**

	Cas 1				Cas 2				Cas 3			
	SP	Urine	Narine gauche	Narine droite	SP	Urine	Narine gauche	Narine droite	SP	Urine	Narine gauche	Narine droite
Héroïne	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
6MAM	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-
Morphine	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
Autres médicaments	+		+	+	+		-	-	+		+	+

**Conclusion :** Pour les trois cas, l'analyse toxicologique des prélèvements sanguins a mis en évidence uniquement la présence de morphine et de codéine. La détection de 6MAM (n = 3) et d'héroïne (n = 1) dans les écouvillonnages narinaires a permis d'orienter l'enquête vers une consommation illicite d'héroïne et non vers une prise thérapeutique d'opiacés, et ce même en l'absence de 6MAM dans les urines. Ainsi, les prélèvements narinaires peuvent constituer une matrice alternative pour caractériser une prise d'héroïne, en absence d'urine ou de bile et/ou quand le délai absorption/décès est de plusieurs heures (cas n° 2 décédé 48 h après sniffing probable). Bien que toute interprétation quant à la voie d'administration doit être faite avec précaution compte tenu du risque de contamination, une interprétation tenant compte des résultats obtenus sur le sang et le liquide gastrique ainsi que la latéralisation des prélèvements permettent d'envisager une différenciation des molécules consommées par sniffing de celles provenant d'un liquide de régurgitation.

**Phosalone et éthion : à propos de l'intoxication d'un couple par ingestion**

H. Eysseric<sup>1,2</sup>, N. Allibe-Signorini<sup>2</sup>, A. Barret<sup>2</sup>, J.M. Gaulier<sup>3</sup>, V. Scolan<sup>2</sup>, G. Bessard<sup>1</sup>, L. Barret<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UF Pharmacologie-toxicologie, CHU Grenoble ; <sup>2</sup>Laboratoire de Médecine Légale, UJF, Grenoble ; <sup>3</sup>Service de Pharmacologie et Toxicologie, CHU Limoges

**Objectif :** La phosalone et l'éthion sont des insecticides organophosphorés présents dans de nombreuses spécialités phytosanitaires et très toxiques en cas d'ingestion. Nous rapportons un cas d'intoxication d'un couple, hospitalisé suite à l'ingestion supposée de ces 2 produits. Dans le cadre d'une suspicion d'empoisonnement et à la demande de la justice, différents prélèvements à visée toxicologique sont réalisés au cours de leur prise en charge médicale.

**Méthodes :** Nous disposons de prélèvements de sang, d'urines et de liquide de lavage gastrique réalisés dans un délai supposé d'environ 3 heures après l'ingestion des produits pour monsieur M., et de 5 heures pour madame M. Les analyses de dépistage ont été réalisées à l'aide de cinq types de méthodes : une recherche des substances volatiles par chromatographie gazeuse couplée à une détection par ionisation de flamme dans tous les prélèvements ; un screening direct par méthode immunochimique par polarisation de fluorescence appliquée aux médicaments et stupéfiants les plus courants (sang et urine) ; un screening par chromatographie liquide couplée à une détection par barrette de diodes (CL-BD) après extraction alcaline (sang et liquide de lavage gastrique) ; un screening par chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CPG-SM) après extraction alcaline et acide dans tous les prélèvements et enfin un screening par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse comprenant un triple quadripôle associé à une trappe linéaire après extraction alcaline (urines). Environ 3 mois plus tard, des dosages spécifiques (confirmation) de phosalone et d'éthion ont été réalisés dans tous les prélèvements par CPG-SM, et de dialkylphosphates, métabolites urinaires communs aux 2/3 des pesticides organophosphorés, par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse en tandem (CL-SM/SM).

**Résultats :** La présence de phosalone mise en évidence par 3 techniques de screening chromatographiques (CL-BD, CPG-SM et CL-SM/SM) dans les sangs, urines et liquides de lavage gastrique du couple n'a pu être confirmée par dosage spécifique que dans le liquide gastrique (concentration de 3,25 g/L) de Madame M. et dans le sang (traces) et le liquide gastrique (concentration de 8,59 g/L) de Monsieur M. La présence d'éthion dépistée uniquement par CPG-SM, et seulement dans les liquides de lavage gastrique, a été confirmée aux concentrations respectives de 2,56 mg/L et 11,2 mg/L pour Madame M. et Monsieur M. Des concentrations de trois dialkylphosphates, allant de 21 à 156 mg/L (1 000 fois plus élevées que les valeurs de référence dans la population générale) sont décelées dans les urines du couple. De nombreux médicaments sont également retrouvés dans les milieux biologiques dont aucun n'est mesuré à une concentration toxique. Cette intoxication est fatale pour madame M. après 3 jours d'hospitalisation. À l'autopsie, il est conclu à un décès très probablement secondaire à une dépression respiratoire d'origine toxique. La présence éventuelle de séquelles chez monsieur M. n'est pas connue.

**Conclusion :** Ces résultats sont compatibles avec l'hypothèse d'une ingestion de phosalone et d'éthion. Un dosage des cholinestérases aurait permis de renforcer cette hypothèse. Le fait de ne pas avoir confirmé la présence de phosalone dans le sang de madame M., ni celle d'éthion dans les sangs des 2 personnes, suggère un problème de la stabilité *in vitro* de ce type de composés, malgré une conservation à -20 °C : les organophosphorés sont connus pour être sujets à des phénomènes d'hydrolyse spontanée dans la nature. Ces résultats ne permettent donc pas d'apprécier l'intensité des effets toxiques consécutifs à cette ingestion, mais il faut rappeler qu'une telle intoxication est potentiellement létale.

**Intoxications par la duloxétine : concentrations sanguines post mortem**

M. Deveaux<sup>1</sup>, M. Chèze<sup>1</sup>, G. Hoizey<sup>1</sup>, J. Evans<sup>2</sup>, E. Medrano<sup>1</sup>, F. Billault<sup>1</sup>, G. Pépin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire TOXLAB, Paris ; <sup>2</sup>Eurofins Forensic Services, London, UK

**Introduction :** La duloxétine (Cymbalta® 30 mg et 60 mg, gélules gastro-résistantes) est un inhibiteur de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline mis sur le marché en France début 2008. Elle est indiquée dans le traitement des épisodes dépressifs caractérisés et de la douleur neuropathique diabétique périphérique. À l'étranger, elle peut être prescrite dans le traitement des troubles anxieux généralisés. Très peu de données sont disponibles dans la littérature scientifique concernant les concentrations toxiques et *post mortem*. Ce travail décrit 15 cas médico-judiciaires dans lesquels la duloxétine a été dosée dans du sang prélevé lors de l'autopsie.

**Méthodes et patients :** La duloxétine a été recherchée dans le sang et l'urine par CPG-SM (ions caractéristiques m/z 203, 157, 115) ; elle est partiellement dégradée dans l'injecteur et donne un artefact (m/z 144, 115, 89). Elle est dosée dans le sang cardiaque par CLHP-BD ( $\lambda_{max}$  216,5 nm, épaulement à 228 nm). La limite de détection de la méthode est de 0,01 µg/mL. **Cas#1 :** femme de 43 ans retrouvée décédée à son domicile, avec des antécédents d'alcoolisme et de dépression. **Cas#2 :** femme de 43 ans, décédée en réanimation, après une intoxication polymédicamenteuse. **Cas#3 :** femme de 41 ans retrouvée décédée à son domicile, avec des traces de coups sur le visage. **Cas#4 :** femme de 55 ans, retrouvée décédée à son domicile ; il était conclu à un suicide. **Cas#5 :** homme de 58 ans, retrouvé décédé à son domicile, avec des antécédents de troubles psychiatriques. **Cas#6 à #15 :** 8 hommes et 2 femmes retrouvés chacun décédé à leur domicile, pour lesquels il était conclu à un suicide par intoxication médicamenteuse.

**Résultats :** Les concentrations sanguines de duloxétine sont données en µg/mL, la présence dans l'urine est signalée et les principaux toxiques associés sont précisés. **Cas#1** duloxétine 0,35 µg/mL, présence dans l'urine, alcool 1,17 g/L ; **Cas#2** duloxétine 1,39 µg/mL, pas d'urine ; **Cas#3** duloxétine 0,51 µg/mL, présence dans l'urine, alcool 3,52 g/L ; **Cas#4** duloxétine 1,56 µg/mL, présence

dans l'urine, alcool 4,58 g/L, paroxétine 0,83 µg/mL ; **Cas#5** duloxétine 0,32 µg/mL, pas d'urine, mirtazapine 0,32 µg/mL, fluvoxamine 0,80 µg/mL ; **Cas#6** à **#13** duloxétine <0,12 µg/mL, présence dans l'urine, en association avec de l'alcool et/ou d'autres médicaments psychotropes à concentrations toxiques (sauf **#9** : intoxication au butane) ; **Cas#14** et **#15** : présence de duloxétine uniquement dans l'urine, association avec d'autres médicaments psychotropes à des concentrations toxiques.

**Discussion et conclusion** : Les données de pharmacocinétique les plus récentes estiment que la concentration sanguine de duloxétine à l'état d'équilibre est de 0,04 µg/mL (25<sup>ème</sup> et 75<sup>ème</sup> percentiles : 0,02-0,05 µg/mL) et que la zone thérapeutique va de 0,02 à 0,11 µg/mL. Les 5 premiers cas présentent donc des concentrations sanguines telles que la surdose de duloxétine est manifeste (0,32-1,56 µg/mL). Cependant, de par la présence d'alcool et/ou d'autres psychotropes dans le sang, il n'est pas possible d'affirmer que la duloxétine est la seule cause pour le décès, bien que l'on puisse considérer qu'elle soit un facteur très important. Les 10 autres cas (0,02-0,11 µg/mL), étudiés sur une période de 12 mois après la mise sur le marché du médicament, donnent une estimation de la fréquence de découverte de la duloxétine, car dans notre procédure elle est systématiquement recherchée dans le sang et l'urine. Les phénomènes de redistribution *post mortem* n'ont pas été étudiés. On notera que des mesures de surveillance ont été mises en place par l'Afssaps en complément du plan de gestion des risques européen, permettant de préjuger d'une certaine toxicité du produit.

### Mort d'un body packer : données scanographiques, autopsiques et toxicologiques à propos d'une observation exceptionnelle de surdosage en cocaïne

A. Tracqui<sup>1</sup>, F. Stierle<sup>2</sup>, F. Levy<sup>2</sup>, B. Bouverot<sup>2</sup>, S. Kacem<sup>2</sup>, G. Chain<sup>3</sup>, C. Jamey<sup>1</sup>, B. Ludes<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut de Médecine Légale, Strasbourg ; <sup>2</sup>Pôle SAMU-SMUR-Urgences-Réanimation médicale, CH Mulhouse ; <sup>3</sup>Pôle Imagerie Médicale, CH Mulhouse

**Objectif** : Un jeune homme de 17 ans, passager d'un vol international, présente un malaise brutal avec convulsions puis arrêt cardio-respiratoire. La réanimation tentée à bord de l'avion puis après son atterrissage en urgence sur un aéroport français restera inefficace. Un scanner est réalisé en *post mortem*, suivi d'une autopsie médico-légale avec prélèvements multiples. Nous présentons ici les résultats de l'ensemble des investigations pratiquées (imagerie, autopsie, toxicologie notamment dosages de cocaïne (COC) et métabolites par GC/MS).

**Méthodes** : 1) *Extraction pour COC et métabolites*. Après dilution au 1/100 à 1/10 000 selon les cas et ajout de standards internes (SI) trideutérés, les fluides biologiques ou homogénats d'organes subissent une triple extraction en phase liquide suivie d'une dérivation par BSTFA + 1 % TMCS. 2) *Chromatographie*. GC Agilent 6890, colonne HP-5 (Interchim) 30 m x 0,25 mm, gaz vecteur He (5,6), injecteur 270 °C, four 60 à 295 °C (+ 30 °C/min). 3) *Détection*. SM Agilent 5973, acquisition en TIC ou en SIM sur les ions caractéristiques, quantification par ratio des aires analyte/SI et report sur la droite de calibration.

**Résultats** : 1) *Scanner*. Présence de multiples corps étrangers de forme régulière dans l'estomac. 2) *Autopsie*. Présence dans l'estomac de 59 capsules ovoïdes pesant de 9 à 12 g, baignant dans 200 mL de liquide gastrique noirâtre ; la muqueuse gastrique présente quelques ulcérations, le reste de l'autopsie est sans particularités. 3) *Toxicologie*. Les résultats pour COC et métabolites sont donnés dans le tableau suivant (fluides : ng/mL, viscères : ng/g, phanères : pg/mg). Le reste du bilan toxicologique est strictement négatif.

	COC	BZE	EME	AEME
Sang périphérique	97 810	214 550	187 090	1 260
Urines	119 420	384 880	459 170	2 140
Bile	106 610	28 030	70 840	2 260
Vitré	6 960	2 110	3 290	50
Contenu gastrique	7 580 080	202 090	96 500	51 440
Contenu intestin grêle	319 900	32 890	91 500	9 510
Foie	13 360	28 510	26 280	430
Rein	14 800	5 490	14 630	170
Poumon	12 370	9 330	15 860	230
Myocarde	22 120	18 790	10 080	690
Cerveau	15 880	5 870	11 000	200
Rate	27 510	4 510	18 130	480
Muscle squelettique	7 750	5 310	9 270	170
Cheveux	1 140	810	3 250	20
Poils pubiens	4 790	5 220	26 870	140

**Conclusions** : Les taux très élevés de BZE et EME malgré le décès rapide sont probablement en grande partie dus à une hydrolyse *post mortem* ou *in vitro* de la COC (prélèvements faits sur tubes secs), il y a donc lieu de considérer surtout la somme molaire COC+BZE+EME. La présence de taux comparativement faibles d'AEME est probablement un artefact de formation dans l'injecteur. Le transport de cocaïne par « body packing » est potentiellement très dangereux, pourtant la littérature ne compte que peu de décès toxicologiquement documentés [1]. Cette observation est exceptionnelle tant par son iconographie que par les taux de cocaïne mesurés dans les prélèvements *post mortem*, parmi les plus élevés jamais publiés.

**Références** : [1] Gill RG. et coll. Ten years of 'body packers' in New York City : 50 deaths. J Forensic Sci. 2002; 47(4): 843-846.

## RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS AFFICHÉES

### Consommation chronique de cannabis. À propos de 38 cas d'intoxication rapportés au Centre Antipoison et de Pharmacovigilance du Maroc

H. Hami<sup>1</sup>, A. Soulaymani<sup>1</sup>, L. Ouammi<sup>2</sup>, N. Rhalem<sup>2</sup>, M. Badri<sup>2</sup>, A. Mokhtari<sup>1</sup>, R. Soulaymani-Bencheikh<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Génétique et Biométrie, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, Kénitra, Maroc ; <sup>2</sup>Centre Antipoison et de Pharmacovigilance du Maroc, Rabat, Maroc ; <sup>3</sup>Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat, Maroc

**Objectif** : Au Maroc, comme dans d'autres pays, la consommation chronique de cannabis par une fraction importante de la population reste préoccupante au regard de ses effets sur la santé « physique et psychologique » et de ses répercussions sociales. L'objectif principal de cette étude est de connaître le profil des personnes prises en charge pour leur usage répété de ce produit psychoactif.

**Méthodes** : Une étude rétrospective a été menée à partir des cas déclarés d'ivresse cannabique (ou intoxication), à l'aide des fiches standardisées de déclaration, au Centre Antipoison et de Pharmacovigilance du Maroc durant la période 1980-2004.

**Résultats** : Entre le 17 avril 1980 et le 23 février 2004, 38 toxicomanes ont eu recours aux structures sanitaires pour une intoxication chronique au cannabis, soit 58 % des consommateurs accueillis dans ces établissements (parmi les 66 cas pour lesquels l'intention est déclarée). Le délai entre la prise de produit et l'arrivée à l'hôpital est en moyenne de 6 heures. Il est inférieur à 4 heures dans 75 % des cas. Les sujets pris en charge sont le plus souvent des hommes, âgés en moyenne de 25 ans (extrêmes 12 et 60 ans). En effet, d'après les données de l'étude, les adolescents ou les jeunes adultes

de sexe masculin (16-26 ans), en particulier ceux qui vivent dans les zones urbaines, sont les principaux consommateurs réguliers de ce produit avec une fréquence de 69 %. Parmi les 25 patients pour lesquels l'évolution est connue, un homme de 40 ans est décédé suite à une prise prolongée de quantités importantes de cannabis.

**Conclusion :** Les effets délétères de la prise chronique de cannabis sur la santé physique et psychique des consommateurs justifient une information du public, en particulier les jeunes pour une meilleure prévention de l'usage de substances psychoactives.

### Intoxication par *Datura stramonium* au Maroc « chdeq-jmel », 1981-2003

H. Hami<sup>1</sup>, A. Soulaymani<sup>1</sup>, L. Ouammi<sup>2</sup>, N. Rhalem<sup>2</sup>, M. Badri<sup>2</sup>, A. Mokhtari<sup>1</sup>, R. Soulaymani-Bencheikh<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Génétique et Biométrie, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, Kénitra, Maroc ; <sup>2</sup>Centre Antipoison et de Pharmacovigilance du Maroc, Rabat, Maroc ; <sup>3</sup>Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat, Maroc

**Objectif :** Également connu sous le nom de datura, stramoine ou pomme épineuse, *Datura stramonium*, plante contenant trois alcaloïdes tropaniques doués de propriétés anticholinergiques, est réputé pour ses propriétés pharmacologiques, mais aussi pour ses propriétés toxiques ou hallucinogènes. De très petites quantités suffisent à provoquer une intoxication grave qui se traduit par l'apparition des signes atropiniques, en particulier une mydriase, des hallucinations et des convulsions qui peuvent aboutir au coma et à la mort. L'objectif de cette étude est de dresser le profil épidémiologique des personnes intoxiquées par *Datura stramonium* et préciser les circonstances de leur exposition.

**Méthodes :** L'étude présentée a été faite à partir d'une analyse rétrospective des cas déclarés d'intoxication, de 1981 à 2003, au Centre Antipoison et de Pharmacovigilance du Maroc.

**Résultats :** Durant la période considérée, 48 cas d'intoxication ont été déclarés. La prédominance masculine des victimes était marquée, avec un sex-ratio de 1,67. L'âge moyen des victimes était de 14,6 ans avec des extrêmes allant de 1 à 65 ans. D'après les données de l'étude, les enfants âgés de moins de 15 ans sont concernés dans 69 % de ces cas. L'intoxication par cette plante, dans la quasi-totalité des cas, est accidentelle avant l'âge de 10 ans, alors qu'elle est volontaire chez les adolescents et les jeunes adultes (trois tentatives de suicide). Suivant les données collectées, la majorité des intoxications est survenue soit à domicile (55 %) ou dans un lieu public (30 %). Heureusement, après un délai moyen de 13 heures entre l'ingestion et l'admission à l'hôpital, l'évolution a été favorable en 24 heures à 5 jours pour tous les patients sous traitement évacuateur et symptomatique.

**Conclusion :** L'incidence réelle des intoxications par cette plante est fort probablement supérieure au nombre de cas documentés par le Centre Antipoison, en raison des cas non diagnostiqués et non déclarés.

### Injection intraveineuse volontaire de mercure : à propos d'un cas suivi sur 7 mois

P. Nisse<sup>1</sup>, L. Labat<sup>2</sup>, D. Olichon<sup>3</sup>, T. Onimus<sup>4</sup>, F. Saulnier<sup>4</sup>, M. Mathieu-Nolf<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centre Antipoison ; <sup>2</sup>Laboratoire de Toxicologie et Génopathies ; <sup>4</sup>Service d'Urgence Respiratoire de Réanimation Médicale – CHRU de Lille ; <sup>3</sup>Laboratoire Pasteur Cerba – Cergy Pontoise

**Objectif :** Les cas d'injection volontaire de mercure en intraveineux sont rares. Souvent pauci-symptomatiques dans la phase initiale, les conséquences à long terme sont mal connues. Nous présentons un cas clinique avec un suivi sur 7 mois.

**Observation :** Un homme de 30 ans se fait une injection de mercure au niveau de la veine radiale gauche. Il consulte à J + 3 aux urgences, il présente

une inflammation locale avec une tuméfaction érythémateuse non collectée. Le reste de l'examen clinique est strictement normal. Le bilan radiologique met en évidence au niveau de la main gauche des opacités réalisant le trajet de la veine radiale et au niveau du thorax des opacités aux 2 bases (aspect de capillarogramme). Le scanner thoracique montre du mercure embolisé dans les branches artérielles pulmonaires périphériques et dans le ventricule droit. Le scanner cérébral est normal. Le scanner abdomino-pelvien objective des opacités de siège hépatique, rénal droit, veines pelviennes et veine fémorale droite. L'évolution sera marquée par l'apparition d'un abcès localisé sans complication générale, une cytolyse hépatique modérée de régression spontanée et une fonction rénale normale. Il a bénéficié d'un traitement chélateur par le BAL de J + 4 à J + 6 et d'un drainage chirurgical de la collection du poignet à J + 10. Après 7 mois de suivi, le patient est toujours asymptomatique, sa fonction rénale est restée normale, les opacités métalliques persistent sur les clichés radiologiques.

**Analyses toxicologiques :** Le mercure urinaire a été mesuré en spectrométrie d'émission en plasma induit couplée à la spectrométrie de masse (ICP-MS) en milieu acide en présence d'or [1]. Il est de 213 µg/g de créatinine à J + 9. Les résultats du dosage du mercure dans le sang sont résumés dans le tableau ci-dessous. Les dosages initiaux lors de l'hospitalisation au CH de Tourcoing (5<sup>ème</sup> et 6<sup>ème</sup> jour) ont été mesurés en spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA), ceux pour le suivi au 5<sup>ème</sup> et 7<sup>ème</sup> mois ont été mesurés en ICP-MS lors de ses consultations au CHRU de Lille.

	J5	J + 6	M + 5	M + 7
mercure sanguin (VPG* < 5 µg/L)	84,1 µg/L	173,9 µg/L	140,0 µg/L	138,0 µg/L

\*Valeur en Population Générale non exposée professionnellement

**Discussion :** Les cas d'injection volontaire de mercure en intraveineux restent rares et se traduisent cliniquement par un tableau pauci-symptomatique (pneumopathie aiguë dans 50 % des cas), radiologiquement par des images punctiformes multiples de densité métallique, réparties au niveau des deux champs pulmonaires. Les traitements chélateurs ne sont indiqués qu'en présence d'un tableau d'intoxication systémique et non sur la seule élévation des concentrations en mercure sanguin. Les effets à long terme du mercure tissulaire qui semble chimiquement stable sont mal connus. Ce mercure métallique va être progressivement ionisé et éliminé dans les urines ; cette ionisation est lente et ne permet pas d'atteindre des concentrations sériques circulantes de sels mercuriques à des taux toxiques. La réalisation de bilan fonctionnel respiratoire, le suivi biologique de la fonction rénale et des tests neurophysiologiques doivent cependant être conseillés et répétés dans le temps.

**Référence :** [1] Labat L et coll. Ann Toxicol Anal. 2007; 19(1): 23-29.

### À propos d'un cas d'intoxication mortelle par le buflomédil

M. Billard<sup>1</sup>, Y. Barguil<sup>1</sup>, J-M Gaulier<sup>2</sup>, E. Choblet<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Biochimie-Hémostase, CHT Gaston Bourret, Nouméa, Nouvelle-Calédonie ; <sup>2</sup>Service de Pharmacologie et Toxicologie – Pharmacovigilance, CHU Dupuytren, Limoges

**Objectif :** Dans les années 1990, un total de 17 cas d'intoxications mortelles par du buflomédil (BFL) avec des concentrations sanguines *post mortem* généralement supérieures à 25 mg/L, avaient été observés par plusieurs équipes françaises. En 1999, 3 autres cas de décès ont été rapportés avec des concentrations sanguines de BFL plus faibles : 14, 16,8 et 27 mg/L [1]. Nous présentons ici un cas associé à une concentration sérique de BFL encore plus faible.

**Cas clinique :** Une jeune femme de 19 ans a été hospitalisée dans l'Unité de Réanimation à la suite d'un arrêt cardio-respiratoire survenu quinze minutes après l'ingestion de BFL (des comprimés de fonzylane 150<sup>®</sup> seront retrouvés à son domicile). À l'admission, elle présentait un coma

Glasgow 3 et une mydriase bilatérale aréactive. Dans les jours suivants, une encéphalopathie post-anoxique, objectivée par angio-scanner, évoluera vers la mort encéphalique.

**Méthodes :** Un dépistage urinaire par technique immunochimique (MultiScreen 10<sup>®</sup> BMD<sup>®</sup>) a révélé un résultat positif (seuil : 1 000 ng/mL) pour les amphétamines. Dans un deuxième temps, un screening urinaire par CL-UV/BD (séparation sur une colonne C<sub>8</sub> Symmetry<sup>®</sup> Waters<sup>®</sup> 5 µm 4,6 × 250 mm par un gradient de concentration acétonitrile/tampon phosphate 50 mM à pH 3,6) a permis de révéler la présence de BFL. Le dosage spécifique du BFL a alors été réalisé dans le sérum, l'urine et le liquide gastrique prélevés 2 h 15 après l'ingestion, après extraction liquide-liquide en milieu alcalin par un mélange heptane/alcool isoamylique, purification de l'extrait et réextraction par un mélange toluène/alcool isoamylique [2], par CG-SM en mode SIM.

**Résultats et discussion :** Il a été décelé les concentrations de BFL suivantes : 10,5 mg/L dans le sérum, plus de 200 mg/L dans les urines et plus de 1 g/L dans le liquide gastrique. Un comprimé de BFL mis en solution et testé sur le réactif MultiScreen 10<sup>®</sup> BMD<sup>®</sup> a rendu un résultat positif avec les amphétamines. Cette réactivité croisée, non décrite jusqu'à présent, pourrait s'expliquer par des groupements chimiques communs entre le BFL et l'amphétamine.

Le Fonzylane<sup>®</sup> est un vasodilatateur périphérique indiqué dans le traitement symptomatique de la claudication intermittente des artériopathies oblitérantes des membres inférieurs. La prise en charge des intoxications par le BFL est difficile en raison de la possibilité de survenue rapide et brutale 15 à 90 minutes après ingestion de symptômes neurologiques et de troubles cardiaques graves pouvant évoluer vers un arrêt circulatoire. À partir de 15 mg/L, des effets toxiques sérieux peuvent se manifester et à partir de 3 g (ou 50 mg/kg), c'est-à-dire seulement cinq fois la posologie maximale recommandée, le pronostic vital peut être mis en jeu dans un délai d'une heure. En raison de la marge thérapeutique très étroite du BFL et à la suite de notifications des cas graves d'intoxications, l'AFSSAPS a retiré en Novembre 2006 la spécialité Fonzylane 300<sup>®</sup>.

**Conclusion :** Ce nouveau cas d'intoxication mortelle, avec une concentration sérique la plus faible jamais rapportée à notre connaissance, est à verser au résumé des caractéristiques du produit des spécialités à base de BFL qui exposent les patients à des risques d'effets indésirables sévères, pour un bénéfice clinique non réellement démontré.

**Références :** [1] Goullé JP et coll. Is there a need to decrease the lethal concentrations of buflovedil? Toxicorama. 1999; 4: 240-244. [2] Cooper TB. A sensitive GLC method for the determination of imipramine and desmethylimipramine using a nitrogen detector. Psychopharmacol Commun. 1975; 1: 445-454.

### Interférence des métabolites de l'éthylène glycol sur le dosage ampérométrique du lactate sur analyseur ABL 825<sup>®</sup> Radiometer. À propos d'un cas

A. Citterio-Quentin<sup>1</sup>, L. Chardon<sup>1</sup>, F. Parant<sup>1</sup>, M. Moulisma<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UF Pharmacotoxicologie, Fédération de Biochimie, Hôpital Edouard Herriot, Lyon

**Objectif :** Il s'agissait de tester l'interférence des métabolites de l'éthylène glycol sur analyseur ABL 825<sup>®</sup> de Radiometer.

**Méthode :** Un homme de 86 ans est retrouvé inconscient à son domicile sans notion d'intoxication. À son admission, il présente une acidose (pH = 7,24) associée à une hyperlactacidémie marquée à 26 mmol/L sur ABL 825<sup>®</sup> (méthode ampérométrique utilisant la L-lactate oxydase), secondairement contrôlée à 4,54 mmol/L sur Dimension RxL<sup>®</sup> (Lactate déshydrogénase). En raison d'interférences précédemment décrites sur la mesure du lactate [1,2] lors d'intoxications à l'éthylène glycol, nous avons suspecté et confirmé une intoxication chez ce patient dont le taux d'éthylène glycol a été retrouvé à 2,40 mmol/L [3].

Afin de tester ces interférences sur l'automate ABL 825<sup>®</sup>, des surcharges croissantes de 0,1 à 40 mmol/L ont été réalisées en éthylène glycol et ses métabolites sur du sang total hépariné.

**Résultats :** La réponse de l'électrode lactate sur ABL 825<sup>®</sup> aux différentes surcharges est présentée dans le tableau ci-dessous (NR : non réalisé). Elle est exprimée en mmol/L de lactate (domaine de linéarité 0 à 30 mmol/L, Normales 0,5 à 2,2 mmol/L).

Nature \ [mmol/L]	0	0,1	0,5	1	2	5	10	20	40
Éthylène Glycol	1	NR	NR	NR	0,7	0,8	0,8	0,8	0,9
Acide glycolique	1,1	1,1	2,1	3,3	5,9	12,1	21	> 30	> 30
Acide oxalique	1,1	NR	NR	NR	0,7	0,9	0,9	0,9	0,7
Acide glyoxylique	1,2	1	1,4	1,9	2,9	5,8	11,8	22	> 30
Glyoxal	1,2	NR	NR	NR	NR	1,4	2	3,7	7,6

Trois des 4 métabolites testés interfèrent avec le dosage de l'acide lactique : l'acide glycolique, l'acide glyoxylique et le glyoxal. Le signal d'une mole d'acide glycolique est équivalent au signal de 2 moles d'acide lactique. Une mole d'acide glyoxylique semble générer une réponse équivalente à une mole d'acide lactique. Enfin, le glyoxal donne une interférence moindre mais non négligeable. Les mêmes essais de surcharges sur plasma fluoré ont été réalisés sur Dimension RxL<sup>®</sup>. Aucune interférence avec le dosage du lactate n'a été notée.

**Conclusion :** La détermination du L-lactate sur l'ABL 825<sup>®</sup> est sujette à des interférences majeures chez des sujets intoxiqués par l'éthylène glycol notamment avec l'acide glycolique qui est le métabolite le plus largement retrouvé en cas d'intoxication. Cette interférence doit être connue des utilisateurs de cet analyseur de gaz du sang.

**Références :** [1] Morgan TJ et coll. Artifactual elevation of measured plasma L-Lactate concentration in the presence of glycolate. Crit Care Med. 1999; 27: 2177-2179. [2] Graïne H et coll. Interférence of ethylene glycol on lactate assays. Ann Biol Clin. 2007; 65(4): 421-424. [3] Hutasse E. et coll. Dosage en urgence d'éthylène glycol par CLHP/UV/BD après dérivation par le chlorure de benzoyle. Application à un cas d'intoxication mortelle. Ann Toxicol Anal. 2005; 17(3): 166.

### Dépistage et quantification de la rispéridone et de la 9-OH-rispéridone dans les cheveux par LC/MS-MS

R. Wennig<sup>1</sup>, S. Schneider<sup>1</sup>, E. Sibille<sup>1</sup>, M. Yegles<sup>1</sup>, H. Neels<sup>2</sup>, A. Mühle<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire National de Santé, Toxicologie, Université du Luxembourg ;

<sup>2</sup>Toxicological Centre, Department of Pharmaceutical Sciences, Université d'Amers ; <sup>3</sup>Services de Psychiatrie Adulte et de Psychiatrie de l'Enfant, Centre Hospitalier de Luxembourg

**Objectif :** La rispéridone est un anti-psychotique de la seconde génération indiquée en cas de psychoses schizophréniques, troubles graves du comportement chez l'enfant et états maniaques. À ce jour aucune étude décrivant la présence de rispéridone dans les cheveux n'a été publiée. Le but de ce travail a été le développement, la validation et l'application à des cas réels d'une méthode de quantification dans les cheveux de la rispéridone et de son métabolite principal, la 9-OH-rispéridone par LC/MS-MS.

**Méthodes :** Des cheveux ont été collectés chez trois patients différents (négroïde, mâle, 25 ans, poids corporel 80 kg pour le premier, caucasien, mâle, 33 ans, poids corporel 160 kg pour le second et caucasien, mâle, 31 ans, poids corporel 100 kg pour le troisième). Les cheveux du premier et deuxième patient ont été coupés en segments. Après lavage, pulvérisation et traitement des cheveux dans un bain ultrason, les analytes ont été isolés par extraction liquide / liquide. Les ions suivants ont été enregistrés pour la rispéridone : ion parent m/z = 411,0, ion fils m/z = 191 ; pour la 9-OH-rispéridone : ion parent m/z = 427, ion fils m/z = 207. Les courants ioniques totaux ont été enregistrés. La méthaqualone a été utilisée comme

étalon interne. La méthode a été validée pour la limite de détection et de quantification, le rendement d'extraction, interférences, suppression d'ions, précision et exactitude et intrajour. Les coefficients de variation étaient > 15 % pour la précision et l'exactitude et interjour et par conséquent une nouvelle calibration a été effectuée chaque jour d'analyse.

**Résultats :** Les concentrations observées dans tous les segments variaient entre 39 à 4765 pg/mg de cheveux pour la rispéridone et de 14 à 57 pg/mg pour la 9-OH-rispéridone. Nos résultats montrent une meilleure corrélation entre les doses administrées et le métabolite qu'entre les doses administrées et la substance mère. Le rapport rispéridone / 9-OH rispéridone variait de 1 à 83 pour les trois patients. Ces différences importantes pourraient être dues d'une part à une différence de séquestration des analytes en fonction de l'origine ethnique des cheveux, mais aussi à une différence de métabolisation interindividuelle (métaboliseur lent / métaboliseur rapide) due à un polymorphisme génétique du CYP 2D6.

**Conclusion :** La méthode LC/MS-MS développée et validée a pu être appliquée avec succès sur l'analyse des cheveux de patients traités par la rispéridone.

### Ingestion volontaire de Crisax® : un cas d'intoxication au brome ?

S. Sabouraud<sup>1</sup>, E. Bugni<sup>2</sup>, G. Panteix<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centre Antipoison et de Toxicovigilance, Lyon ;

<sup>2</sup>Laboratoire Biomnis, Lyon

**Objectif :** Mme A., 80 ans, aux antécédents de mélancolie avec de nombreuses tentatives de suicide, est hospitalisée pour intoxication volontaire au Crisax®, un sédatif anticonvulsivant oral vétérinaire, comprenant 17 mg de phénobarbital, 100 mg de bromure de potassium et 40 mg de bromure de camphre par comprimé. On retrouve 4 boîtes (de 30 comprimés) vides de Crisax® à côté d'elle. Elle présente pendant plusieurs jours une somnolence (score de Glasgow à 13), alternant avec des phases de réveil et de désorientation temporo-spatiale, et des épisodes d'agitation importante, mais pas de convulsion. La patiente est sédatisée pendant 2 J en raison de l'agitation, lorsque la sédation est interrompue les troubles de conscience et de vigilance persistent. Le premier EEG réalisé au bout de 4 J montre un ralentissement global compatible avec un trouble de la vigilance, le second 3 J plus tard montre une très nette amélioration. Le scanner cérébral montre une atrophie corticale compatible avec l'âge. À J9 elle a récupéré un état de conscience normal. Le Centre Antipoison suggère que les troubles de conscience pourraient être expliqués par le Crisax®, par l'importance de la dose supposée ingérée de bromures.

**Méthodes :** À l'entrée de la patiente un bilan sanguin comprenant un ionogramme, une créatinine et une recherche de phénobarbital est réalisé. Ce prélèvement a été repris pour doser la bromémie en spectrométrie de masse couplée à un plasma induit haute fréquence. Le dosage de brome dans les urines a été effectué sur un prélèvement du lendemain, par la même technique.

**Résultats :** La créatininémie et le ionogramme sont normaux, y compris la chlorémie. Le phénobarbital plasmatique est à 98 µmol/L, ce qui correspond à la zone thérapeutique, chez cette patiente par ailleurs non traitée par phénobarbital. La bromémie est très augmentée à 405 mg/L pour des valeurs usuelles dans la population générale ≤ 5 mg/L. La bromurie est également augmentée à 702,4 mg/g de créatinine, pour des valeurs usuelles dans la population générale ≤ 10 mg/g de créatinine.

**Conclusion :** La concentration de phénobarbital « normale » ne peut expliquer les troubles de conscience prolongés observés chez cette patiente. En revanche, de nombreuses intoxications iatrogènes ont été publiées chez les patients traités par bromures (en particulier par le bromogalactogluconate de calcium ou Calcibronat® : 300 mg de brome par comprimé) [1,2,3]. Les effets toxiques du brome, observables lors d'un surdosage (chronique le plus souvent), sont bien d'ordre neuropsychique : encéphalopathie avec

somnolence diurne, désorientation temporo-spatiale, confusion, irritabilité, agitation, hallucinations, et ralentissement diffus à l'EEG [1]... Devant la bromémie élevée et même en l'absence d'une pseudo-hyperchlorémie classiquement décrite dans ces intoxications, le brome pourrait donc participer à l'étiologie des troubles observés chez cette patiente, y compris l'agitation, d'autant plus que la prise volontaire de Crisax® est suspectée sur plusieurs jours ou semaines avant la tentative de suicide. Le camphre peut également participer à l'étiologie de l'agitation.

**Références :** [1] Testud F. Pathologie toxique professionnelle et environnementale. Paris : Eska ; 2005. [2] Frances C et coll. Bromism from daily over intake of bromide salt. J Toxicol Clin Toxicol. 2003; 41(2): 181-183. [3] Lepeyre D. et coll. Intoxication au brome. À propos de 2 cas. JEUR 2001; 14: 260-261.

### Recherche urinaire de consommation de buprénorphine : comparaison des résultats par techniques LC/MS-MS et ELISA

C. Renaud, G. Deslandes, C. Monteil-Ganiere, E. Dailly, P. Jolliet

Laboratoire de Pharmacologie – Toxicologie, CHU, Nantes

**Objectif :** Le but de ce travail est de mesurer la corrélation des résultats de recherche urinaire de buprénorphine entre une méthode en LC/MS-MS et une technique immunochimique ELISA (Microgenics®).

**Méthodes :** LC/MS-MS : Les échantillons, préalablement centrifugés à 14 800 rpm, sont dilués au demi dans une solution aqueuse contenant les 2 étalons internes. La colonne est une Thermo Aquasil C18 50 × 2,1 mm 3 µm. La phase mobile utilise un gradient entre 2 phases mobiles A et B (A : eau, 10 mM formiate d'ammonium, 0,2 % acide formique et B : acétonitrile, 0,1 % acide formique) à un débit de 0,25 mL/min. La détection est réalisée sur un spectromètre de masse API 3200 Qtrap Applied Biosystems, en mode MRM.

Analytes	Transition MRM	Étalons internes	Transition MRM
buprénorphine « non transition »	468,3/468,3	buprénorphine-D4	472,3/59,1
buprénorphine	468,3/55,1	norbuprénorphine-D3	417,3/83,1
norbuprénorphine « non transition »	414,3/414,3		
norbuprénorphine	414,3/83,1		
conjugué buprénorphine	644,2/468,3		
conjugué norbuprénorphine	590,2/414,3		

La quantification est réalisée à l'aide d'une gamme d'étalonnage entre 0 et 100 µg/L, pour chaque analyte. La limite de quantification (LOQ) est de 5 µg/L pour tous les composés. Pour l'étude de corrélation, un résultat est rendu positif dès lors que la concentration en buprénorphine libre ou conjuguée est supérieure à la LOQ.

**ELISA :** Cette technique immunologique en phase solide permet de déterminer la buprénorphine dans l'urine, de façon semi-quantitative grâce à des calibrateurs. L'anticorps détecte la buprénorphine libre et conjuguée. Le taux de croisement avec la norbuprénorphine est de 9 %. Les concentrations 5 µg/L et 2,5 µg/L sont utilisées au laboratoire comme calibrateurs. Le seuil de positivité recommandé par le fabricant et retenu par le laboratoire est de 5 µg/L.

**Résultats :** 177 urines ont été analysées. 47 échantillons sont positifs en ELISA : tous sont positifs en LC/MS-MS (corrélation : 100 %). 130 résultats sont inférieurs au seuil de positivité recommandé en ELISA : parmi ceux-ci, 123 sont négatifs par méthode chromatographique (95 % de corrélation) et 7 sont positifs. L'évaluation semi-quantitative en ELISA de ces 7 urines montre un résultat compris entre 2,5 et 5,0 µg/L.

**Conclusion :** L'analyse des résultats montre une corrélation de 96 % entre les deux méthodes (170/177). La technique chromatographique présente

plusieurs avantages : le prétraitement est rapide, simple et sans recours à une étape d'hydrolyse. Elle permet, non seulement de quantifier la buprénorphine et ses 3 métabolites, mais aussi de confirmer ou infirmer un résultat proche du seuil de positivité de la technique ELISA. En outre, la technique LC/MS-MS permet de détecter la norbuprénorphine libre et glucuroconjuguée, ce qui n'est pas le cas de la technique ELISA.

### Intoxication à la strychnine, concentrations tissulaires post mortem

P. Sibille, J. Damdje, N. Milan

Laboratoire de Toxicologie de la Préfecture de Police, Institut National de Police Scientifique, Paris

**Objectif :** La strychnine est un poison qui semble dater de temps anciens. Peu de valeurs récentes ont été communiquées et l'interprétation quant aux concentrations létales reste délicate. Nous rapportons un cas de décès où de la strychnine a été mise en évidence chez une victime. Il s'agit d'une femme pesant 74 kg pour 1 mètre 57, d'origine cambodgienne, âgée de 68 ans, découverte inanimée, allongée sur le sol à côté de son canapé. Le médecin légiste conclut à une mort survenue par décompensation cardio-vasculaire dans un contexte de pneumopathie chez une femme présentant une néphroangiosclérose. L'absence de traumatisme et de lésions pouvant expliquer la mort et la présence d'un oedème pulmonaire à l'autopsie laisse suspecter un décès d'origine toxique. La strychnine a été dosée dans tous les prélèvements autopsiques mis à notre disposition.

**Méthodes :** Les échantillons prélevés sur la victime ont été analysés selon les procédures habituelles du laboratoire. L'alcool est mesuré par CPG/DIF ; les stupéfiants et les principaux toxiques sont recherchés et dosés par CPG/SM ou CLHP/BAD. La strychnine a été identifiée et quantifiée dans le sang, la bile et l'humeur vitrée suite à une extraction par Toxitubes A® en présence d'un étalon interne, l'alprazolam d5. Les différents tissus et le contenu gastrique ont été extraits selon la méthode de Stass Otto et Ogier.

**Résultats :** Dans un premier temps, les analyses toxicologiques des sangs périphérique et cardiaque, d'un échantillon moyen de viscères et du contenu gastrique ont permis d'identifier uniquement de la strychnine. Les concentrations en strychnine mesurées dans les fluides et organes sont présentées ci-dessous ( $\mu\text{g/mL}$  ou  $\mu\text{g}$ ) :

Sang cardiaque	Sang périphérique	Bile	Humeur vitrée	Foie	Rein	Poumon	Rate	Contenu gastrique
1,3	0,3	1,9	0,1	5,9	Non détecté	0,9	Non détecté	13,6

**Conclusion :** Les valeurs sanguines moyennes publiées lors d'intoxications à la strychnine sont de  $2 \mu\text{g/mL}$  ; nous présentons ici un cas où la teneur mesurée est plus faible bien que la strychnine soit le seul toxique identifié dans les prélèvements biologiques de la victime. Le rapport des concentrations sang cardiaque/sang périphérique de plus de 4 évoque un phénomène de redistribution *post mortem* important. Les concentrations tissulaires observées sont en accord avec celles publiées dans un cas de décès dû à la strychnine.

### Étude comparée de la bile et de l'urine comme voie d'excrétion de xénobiotiques par spectroscopie RMN <sup>1</sup>H et CLHP/SM

B. Cartigny<sup>1</sup>, M. Imbenotte<sup>1</sup>, L. Humbert<sup>2</sup>, N. Azaroual<sup>3</sup>, G. Vermeersch<sup>3</sup>, M. Lhermitte<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Toxicologie, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université de Lille 2 ; <sup>2</sup>Centre de Biologie et Pathologie, CHRU, Lille ; <sup>3</sup>Laboratoire de Physique, d'Application RMN, UMR CNRS 8009, Université de Lille 2, France

**Objectif :** La spectroscopie RMN <sup>1</sup>H est une méthode qui peut permettre l'identification directe et rapide des xénobiotiques dans des liquides biologiques. Le but de ce travail est de tester l'applicabilité de cette technique à plusieurs cas d'intoxication mortelle. La comparaison des deux principaux milieux biologiques d'excrétion que sont l'urine et la bile peut-elle fournir des informations sur les xénobiotiques à l'origine du décès et sur les perturbations des composés endogènes ? Quatre cas d'intoxication mortelle sont rapportés.

**Matériel et méthodes :** L'urine et la bile ont été analysées par spectroscopie RMN <sup>1</sup>H (spectromètre Bruker Avance 500 MHz) sans prétraitement et par CLHP/SM (chaîne Alliance Waters 2695, détecteur simple quadripôle).

**Résultats :** Dans le premier cas sont retrouvés en commun pour les deux milieux des composés endogènes comme le lactate, l'alanine, l'acétate, le succinate, le glycofolle et le formiate. De plus l'urine révèle des concentrations anormales en bétaïne, taurine et créatine. Ces deux derniers peuvent être mis en relation avec l'ingestion de boisson énergisante. Dans l'urine du deuxième cas, en plus des composés endogènes normaux, est révélée la présence d'autres signaux : pics de 0,8 à 1,2 ppm attribuables entre autres à la leucine, un pic à 2,86 ppm attribuable à la triméthylamine et un doublet à 5,80 ppm qui correspond à la région des protons anomériques de glucuronocouplés. Un troisième cas confirme la complémentarité des données fournies par l'analyse des deux milieux, en particulier pour les composés endogènes. Un signal à 2,76 ppm dans l'urine est attribuable à la cétirizine, ce que confirme l'analyse CLHP/SM ; par contre la cétirizine n'est détectée dans la bile par aucune des deux méthodes. Dans la bile est en plus détecté un pic à 2,91 ppm attribuable au groupe N-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> du diltiazem et quantifié à 0,021 mmol/L soit 8,7 mg/L, valeur comparable à 10,6 mg/L obtenu par CLHP/SM. De plus, un signal à 3,96 ppm peut être attribué au groupement méthoxy du diltiazem. D'autres pics, observés de 0,9 ppm à 1,1 ppm sont majoritairement retrouvés dans la bile ainsi que des signaux à 2,12 et de 3,25 à 3,27 qui pourraient correspondre à des xénobiotiques couplés à la taurine ainsi qu'un ensemble de pics vers 7,40 ppm. Ces composés ne sont pas retrouvés dans l'urine et ne correspondent pas aux composés normaux de la bile décrits dans la littérature [1,2]. Les échantillons ont été analysés en parallèle par CLHP/SM et ont révélé la présence de buprénorphine dans les deuxième et quatrième cas, ce qui n'a pu être mis en évidence par RMN <sup>1</sup>H. L'analyse comparée pour une personne donnée, des spectres RMN <sup>1</sup>H de l'urine et de la bile, révèle des éléments d'analyses différents mais complémentaires. En effet, les composants endogènes libres ou couplés présents de ces deux milieux d'excrétion sont différents et des xénobiotiques peuvent ainsi être mis en évidence.

**Références :** [1] Ijare OB et al. Magn Reson Med. 2005; 53: 1441-1446. [2] Paczkowska A et al. Transplant Proc. 2003; 35: 2278-2280.

### Dermite de contact systémique due au relargage de nickel à partir de cathéters périphériques : étude de cas et mise en évidence *in vitro*

C. Frances<sup>1</sup>, G. Hoizey<sup>2</sup>, A. Pruvost<sup>1</sup>, A. Grange-Prunier<sup>3</sup>, F. Sirot<sup>4</sup>, D. Lamiable<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Service Pharmacie, CHU, Reims ; <sup>2</sup>Laboratoire TOXLAB, Paris ; <sup>3</sup>Service de Dermatologie, CHU, Reims ; <sup>4</sup>Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie, CHU, Reims

**Objectif :** Les dermatites de contact systémiques sont des réactions d'hypersensibilité retardée après l'introduction d'un allergène par voie systémique chez une personne antérieurement sensibilisée par voie cutanée. Le diagnostic est parfois difficile. Les réactions allergiques au nickel sont peu décrites dans la littérature ; elles sont essentiellement induites par une exposition orale au nickel, ou par l'utilisation subnormale de dispositifs médicaux implantables. Nous rapportons quatre cas imputables à la présence de nickel dans les cathéters veineux périphériques mis en place au décours d'une perfusion intraveineuse. Du fait de l'impact non significatif attendu

sur les concentrations biologiques de nickel des sujets exposés, la mise en évidence de la libération de nickel par ces dispositifs médicaux a été réalisée au moyen d'expérimentations *in vitro*.

**Patients et Méthodes :** Les dossiers cliniques de quatre femmes ayant développé un exanthème prurigineux quelques heures après une perfusion intraveineuse pratiquée à l'aide du même modèle de cathéter (Optiva®) ont été étudiés. Des tests épicutanés étaient systématiquement réalisés ainsi qu'une épreuve de réintroduction par perfusion de sérum glucosé *via* le cathéter suspecté. Les investigations *in vitro* consistaient en la mise en place d'une série de 8 montages de perfusion glucosée (5 %) intégrant pour chacun un cathéter Optiva®. Le débit de perfusion était fixé à 53 mL/h, soit 1 280 mL délivrés en 24 heures, volume classiquement délivré en pratique clinique. Un montage sans cathéter était utilisé comme témoin. Le dosage du nickel était réalisé sur des échantillons de 5 mL recueillis avant le branchement, puis au temps suivants : immédiatement après le branchement, 30 min, 1, 2, 3, 6, 12 et 24 heures suivant le début de la perfusion. Les dosages étaient effectués au moyen d'une torche à plasma couplée à un spectromètre de masse (ICP-MS modèle 4500, Agilent). Lorsque nécessaire, les échantillons étaient dilués au 1/10<sup>ème</sup> dans le glucosé. La méthode était linéaire jusqu'à 200 µg/L et la limite de quantification était établie à 1 µg/L.

**Résultats :** Au plan clinique, les explorations allergologiques révélaient chez les quatre patientes une sensibilisation franche pour le nickel alors que l'ensemble des tests médicamenteux était négatif. L'interrogatoire établissait la notion d'eczéma de contact ancien aux bijoux fantaisie. Le test de provocation par perfusion de sérum glucosé reproduisait exactement les éruptions antérieures chez toutes les malades. Les expérimentations *in vitro* montraient, en dépit d'une certaine variabilité, une évolution rapide des concentrations de nickel dans le perfusé passant en moyenne de 14 ± 19 µg/L (n = 8) au début de la perfusion pour atteindre un maximum autour de la 12<sup>ème</sup> heure (166 ± 51 µg/L ; n = 8), et se prolongeant ainsi jusqu'à la 24<sup>ème</sup> heure (144 ± 48 µg/L ; n = 8). Aucune libération de nickel (concentrations < 1 µg/L) n'était mise en évidence dans les échantillons provenant du montage témoin.

**Conclusion :** Ces cas de dermite de contact systémique par allergie au nickel à partir d'un cathéter, incriminent tous le même modèle de cathéter. Les investigations cliniques en démontrent clairement la responsabilité et nos expérimentations ont permis de confirmer la libération de nickel à partir du cathéter suspecté. Il est probable que ce phénomène soit sous estimé, suggérant que ces investigations devraient être étendues à d'autres marques de cathéters voire à d'autres dispositifs médicaux.

### Les produits stupéfiants consommés en 2008

M.-H. Ghysel-Laporte<sup>1</sup>, C. Robinot<sup>1</sup>, F. Bouchet<sup>1</sup>, M. Mancebo<sup>1</sup>, S. Layec<sup>1</sup>, F. Sengelín-Lebreton<sup>1</sup>, L. Dujourdy<sup>2</sup>

<sup>1</sup>INPS- Laboratoire de toxicologie de la préfecture de Police, Paris ;

<sup>2</sup>INPS- Laboratoire de police scientifique, Lyon

**Objectif :** D'années en années, les produits stupéfiants consommés évoluent. Des nouveaux produits apparaissent, d'autres disparaissent. Nous souhaitons vous présenter les tendances.

**Méthode :** Un bilan de la situation en 2008 est effectué, grâce au recueil des statistiques du fichier S.T.U.P.S. (Système de traitement uniformisé des produits stupéfiants), alimenté par les 5 laboratoires de l'Institut National de Police Scientifique (INPS), et une étude bibliographique.

**Résultats :** Le cannabis reste toujours le produit stupéfiant le plus consommé en France, avec une particularité française par rapport à nos voisins européens, il est consommé à 90 % sous forme de résine. La cocaïne est toujours très utilisée depuis ces 5 dernières années. L'héroïne, après une diminution vers les années 2000 revient en force sur le marché, on assiste à davantage de saisies, 2007 étant la deuxième année consécutive où la quantité saisie en France dépasse la tonne. Les saisies d'amphétamines et dérivés, quant à elles sont en net recul et on note une disparition de la plupart des dérivés.

Le nombre de dossiers renfermant ces dérivés amphétaminiques ces dernières années est indiqué dans le tableau suivant :

Produit /Année	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
MDMA	513	420	399	233	165	114	77
MDA	7	9	6	3	2	0	0
MDEA	8	9	6	2	0	0	0
MBDB	0	3	0	0	0	0	0
2-CB	1	0	0	0	0	1	0
4-MTA, PMMA, PMA, TMA, 2C-T-2 2C-T-7	2 (PMA)	0	0	0	0	0	0
2CI	0	2	2	0	2	2	0
MDHOET	0	0	0	3	0	0	0
mCPP	0	0	0	5	24	26	12
BZP/DBZP/TFMPP	0	0	0	0	1	4	1

Quant aux autres produits, il y a quelques années on parlait du rachacha, on ne le rencontre maintenant que de façon clairsemée. En 2005, on a vu l'apparition de la consommation de pipérazines, il semble qu'elle se soit stabilisée. En 2008, on a vu émerger l'utilisation de kratom (*mitragyna speciosa*), de spice avec ces principes actifs : JWH-018 / CP 47,497 et ses homologues (C6, C8 et C9) et HU-210 récemment classés stupéfiants.

**Conclusions :** Les tendances de consommation changent au fil du temps, certaines molécules ont quasiment disparu, on peut alors se demander quelle est l'utilité de les rechercher encore dans les analyses de routine et les contrôles de qualité réalisés dans les liquides biologiques. Il serait plus opportun de les remplacer par d'autres, récemment apparus.

### Les dépistages urinaires et salivaires dans la Région Nord-Pas de Calais. Évaluation sur janvier-février 2009

C. Chatelain<sup>1,2</sup>, J.F. Wiart<sup>1</sup>, L. Humbert<sup>1</sup>, M. Lhermitte<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Toxicologie & Génomathies, Centre de Biologie Pathologie – CHRU de Lille, 59037 Lille ; <sup>2</sup>Laboratoire de Biologie – Toxicologie – CH de Valenciennes, 59300 Valenciennes

**Objectifs :** Évaluer l'importance de la réalisation de ces tests par les services de police dans le Hainaut et la métropole lilloise, évaluer la sensibilité de ceux-ci et rechercher l'existence de faux positifs.

**Matériels et Méthodes :** Durant les deux premiers mois de l'année 2009, 166 prélèvements ont été analysés dans le cadre des accidents de la voie publique ou du contrôle routier. Parmi ceux-ci, 52 faisaient l'objet d'un dépistage urinaire et 60 d'un dépistage salivaire. Les analyses ont été effectuées par les techniques ayant fait l'objet d'un consensus au sein de la SFTA.

**Résultats :** Sur les prélèvements étudiés, des dérivés du cannabis ont été mis en évidence dans 53 % des cas, de la cocaïne et ses métabolites dans 6 %, des opiacés dans 12 % et des dérivés amphétaminiques dans 4,2 % des cas. Pour le cannabis, 82 % des dépistages urinaires ont été confirmés par la présence de THC et THC-COOH et 5 % par la seule présence de THC-COOH et 13 % de faux positifs. Lors des dépistages salivaires, ces chiffres sont respectivement de 86 % et 4 % pour les confirmations et 10 % de faux positifs. 100 % des dépistages positifs pour les autres classes de stupéfiants ont été confirmés.

**Conclusions :** Sans pouvoir estimer la part des faux négatifs, les tests salivaires utilisés lors des accidents de la voie publique ou lors des contrôles routiers permettent comme les tests urinaires de détecter les stupéfiants avec une confirmation de 100 % pour les opiacés, les dérivés amphétaminiques, la cocaïne et ses métabolites et de 90 % pour le cannabis.

### Détermination de l'indium dans des échantillons plasmatiques et urinaires par spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif (ICP-MS)

G. Deumer<sup>1</sup>, G. Cinar<sup>1</sup>, F. Uwambayinema<sup>1</sup>, D. Lison<sup>1</sup>, P. Hoet<sup>1</sup>, V. Haufroid<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Unité de Toxicologie Industrielle et de Médecine du Travail, Faculté de Médecine, Université catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique

**Introduction :** La production mondiale d'oxyde d'indium-étain (indium-tin oxide, ITO) a fortement augmenté ces dernières années principalement à cause de l'augmentation de la production des écrans à cristaux liquides. Ces écrans à cristaux liquides sont les principaux composants des moniteurs plats pour l'informatique et la télévision et ils assurent la fonction d'affichage d'un nombre croissant de dispositifs portables (GSM, appareils photo...). Des cas de pneumopathie interstitielle ont été rapportés chez des travailleurs exposés à ces substances. Le développement d'une méthode de dosage de l'indium dans des échantillons plasmatiques et urinaires devrait permettre d'évaluer la résorption de ces dérivés de l'indium ainsi que la réalisation d'études épidémiologiques qui pourraient éventuellement aboutir à la proposition d'indices biologiques d'exposition en milieu professionnel.

**Méthodes :** Une méthode de quantification de l'indium par spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif a été mise au point et utilisée chez 12 travailleurs professionnellement exposés à des composés d'indium ainsi que chez 20 contrôles. Chez chacun des 12 travailleurs, cinq échantillons successifs ont été récoltés (n = 60). Le dosage de l'indium dans le plasma et l'urine a été effectué à l'aide d'un ICP-MS Agilent 7500cx équipé d'une cellule de collision (octopole reaction system, ORS) travaillant en mode hélium. L'indium a été quantifié à la masse m/z 115 et le rhodium a été utilisé comme standard interne. Les échantillons ont été dilués 1/10 dans un diluant basique (1-butanol 2 % w/v, EDTA 0,05% w/v, Triton X-100 0,05 % w/v, NH<sub>4</sub>OH 1 % w/v) contenant le standard interne.

**Résultats :** La limite de quantification (LQ) pour le dosage de l'indium dans le plasma a été estimée à 0,08 µg/L. Les résultats obtenus pour les contrôles (n = 20) étaient tous en dessous de la LQ. Un résultat supérieur à la LQ a été obtenu pour les 60 échantillons provenant des travailleurs exposés (moyenne : 4,91 µg/L, déviation standard : 4,21). La LQ pour le dosage de l'indium dans l'urine a été estimée à 0,05 µg/L. Les résultats obtenus pour les contrôles (n = 20) étaient de nouveau tous en dessous de la LQ. Un résultat supérieur à la LQ a également été obtenu pour les 60 échantillons provenant des travailleurs exposés (moyenne : 1,22 µg/L, déviation standard : 0,73). Les concentrations plasmatiques d'indium étaient beaucoup plus stables dans le temps alors que les concentrations urinaires montraient des variations beaucoup plus importantes.

**Conclusion :** La méthode de dosage développée et validée sur une cohorte de travailleurs exposés à des composés d'indium peut donc être utilisée pour des études de surveillance biologique et d'évaluation des risques.

### Implémentation de modules d'analyse en ligne EC/HPLC/MS pour la simulation de la phase I oxydative du métabolisme

D. Cornet, P. Colinaux  
 Alpha MOS, Toulouse

**Objectif :** En matière d'études métaboliques, les méthodes *in vivo* et *in vitro* sont complexes et longues à mettre en œuvre. L'utilisation de cellules coulométriques à écoulement traversant permet de simuler la phase I métabolique et d'identifier rapidement les métabolites réactifs lors du développement de médicaments.

**Méthodes :** Un nouveau type de cellules d'analyse en ligne avec flux traversant orthogonal et électrode interchangeable (Antec Leyden, Pays-Bas) a été utilisé pour simuler la phase I métabolique par oxydation électrochimique du paracétamol. Après séparation sur colonne de chromatographie en phase

liquide, les métabolites (APAP et APAP-GSH) ont été identifiés en utilisant un détecteur électrochimique et la spectrométrie de masse.

**Résultats :** En faisant varier plusieurs paramètres d'analyse (débit du flux traversant, type d'électrode), les résultats obtenus avec la nouvelle cellule à flux traversant orthogonal et avec une cellule coulométrique ont été comparés. Les pics maximum de métabolites ont été observés pour un débit de 10 µL/min (aire = 1319) pour la nouvelle cellule avec une électrode carbone et 100 µL/min (aire = 627) pour la cellule classique. Parmi les 3 types d'électrodes testés (Au, Pt, C), celle en carbone a donné les meilleurs résultats en terme d'aire de pic, avec néanmoins un écart-type plus important.

**Conclusion :** La phase I métabolique a pu être simulée avec succès à l'aide d'une cellule coulométrique et d'une nouvelle cellule à flux traversant orthogonal. Le nouveau type de cellule a montré un meilleur rendement de réaction et un taux de déviation plus faible que la cellule coulométrique classique.

### Une méthode entièrement automatisée SPE/LC/MS pour l'analyse de la cocaïne et des métabolites associés dans le sang

P. Colinaux, D. Cornet  
 Alpha MOS, Toulouse

**Objectif :** La cocaïne est la drogue pour laquelle les abus sont les plus fréquents. Par conséquent cette substance est très couramment en cause dans les cas de toxicologie clinique et médico-légale. La plupart des laboratoires de toxicologie utilisent une méthode de criblage immuno essais, avant confirmation des tests par SPE-GC-MS. Étant donné que ces laboratoires sont continuellement sollicités pour développer de nouveaux modes rapides d'analyse, cette présentation propose une méthode entièrement automatisée pour l'analyse de la cocaïne et ses principaux métabolites (benzoylecgonine, méthyl ester ecgonine, ecgonine et cocaéthylène) dans le sang [1].

**Méthodes :** Une station d'extraction en ligne (Spark Holland) a été couplée à un système LC-MS (Applied Biosystems 4000 QTrap) afin de réaliser un cycle entièrement automatisé d'extraction et d'analyse d'échantillons d'urine et de sang pré-traité (précipitation des protéines et ultracentrifugation). Dix cartouches SPE avec des matériaux différents (adsorbant Hysphere MM anionique) ont été testées pour optimiser l'étape d'extraction des composés cibles dans l'urine et le sang. La séparation des composés a été réalisée à l'aide d'une méthode de chromatographie par gradient avec une colonne Gemini C6-Phenyl (50 mm × 3,00 mm i.d., 5 µm). L'analyse s'est faite en mode ionique positif couplée à la spectrométrie de masse par ionisation, en utilisant des réactions multiples pour augmenter la sélectivité et la sensibilité de la méthode. Pour chaque analyse, 2 réactions de transition sont menées pour chaque analyte et une transition pour chaque standard interne.

**Résultats :** Avec cette méthode d'analyse, la détection de la cocaïne, de ses principaux métabolites (cocaéthylène, ecgonine, méthyl ester ecgonine, benzoylecgonine) et leurs formes deutérées a été validée, et a montré une linéarité sur la gamme 10-500 ng/mL. De très hautes précision (< 9 %) et reproductibilité (< 7 %) ont été mesurées. Les limites de détection observées variaient de 3 à 16 ng/mL selon les analytes et les limites de quantification de 8 à 47 ng/mL. La sélectivité du mode d'extraction a été validée en comparant l'analyse des échantillons contenant la drogue à celle de 10 blancs d'urine et de sang.

**Conclusions :** La combinaison des 2 instruments en un seul système a montré la possibilité d'utiliser cette technique pour des analyses à haute cadence (un échantillon toutes les 5 minutes), sans perte de sélectivité et de sensibilité de détection.

**Extraction sélective du LSD dans les cheveux et l'urine par polymère à empreintes moléculaires**

F. Hugon<sup>1</sup>, M. Cruz-Vera<sup>1,2</sup>, R. Savane<sup>1</sup>, M. Valcarcel<sup>2</sup>, M. Deveaux<sup>3</sup>, V. Pichon<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire environnement et chimie analytique (UMR PECSA 7195), ESPCI ParisTech, Paris ; <sup>2</sup>Université de Cordoba, Espagne ; <sup>3</sup>Laboratoire TOXLAB, Paris

**Introduction :** La recherche et le dosage du LSD dans les matrices biologiques requièrent une étape de purification afin d'éliminer les nombreux interférents contenus dans ces matrices. L'extraction sur phase solide reste la méthode de choix mais ces supports conventionnels souffrent d'un certain manque de sélectivité gênant l'identification et la quantification des composés d'intérêt [1]. Pour pallier ce problème, de nouveaux supports sélectifs appelés polymères à empreintes moléculaires (MIPs, Molecularly Imprinted Polymers) ont été développés [2]. Au même titre que les anticorps, les MIP possèdent des sites récepteurs spécifiques d'une molécule cible. L'extraction est donc fondée sur un mécanisme de reconnaissance moléculaire. La synthèse est généralement réalisée dans un solvant aprotique et peu polaire en présence de monomères préalablement choisis pour leur capacité à développer de fortes interactions non covalentes (liaisons hydrogène) avec la molécule empreinte. Après polymérisation autour de cette molécule, son élimination conduit à la présence de cavités spécifiques.

**Objectif :** L'objectif de cette étude est donc de synthétiser et de caractériser un MIP pour l'extraction sélective du LSD dans l'urine et des extraits de cheveux afin de purifier l'échantillon avant l'analyse par LC/MS.

**Méthodes :** La synthèse du MIP a été réalisée dans de l'acétonitrile avec le maléate d'ergonovine (analogue structural du LSD) comme molécule empreinte pour éviter tous risques de faux positifs lors des extractions.

Un polymère non imprimé (NIP) a été également synthétisé pour évaluer le taux d'interactions non spécifiques. En étudiant le mécanisme de rétention, le MIP a été caractérisé en termes de sélectivité et de rétention à la fois en milieu organique et en milieu aqueux pour être ensuite appliqué à des échantillons réels (urine et cheveux). Les performances du support ont également été comparées à un support d'extraction conventionnel pour la recherche du LSD dans l'urine.

**Résultats :** Pour la première fois, un MIP dédié à l'extraction sélective du LSD a été synthétisé avec succès. Une procédure fondée sur le développement de liaisons hydrogène a permis d'extraire le LSD des cheveux à des concentrations de 0,1 ng/mg avec 82 % de rendement d'extraction (9 % seulement sur le NIP). Après une modification de la procédure, le MIP a également été appliqué au milieu urinaire pour permettre l'extraction du LSD à 0,5 ng/mL avec un rendement de 83 % (11 % seulement sur le NIP). Grâce à l'utilisation du MIP, la limite de quantification du LSD dans l'urine a pu être abaissée à 0,2 pg/mL. Enfin, la comparaison avec un support conventionnel d'extraction (C<sub>18</sub>) n'a fait que confirmer le haut degré de sélectivité apporté par le polymère imprimé.

**Conclusion :** Cette étude a permis de montrer le grand potentiel des MIPs pour l'extraction sélective de composés comme le LSD, actif à de très faibles concentrations et pour son application dans le domaine de l'analyse toxicologique médico-légale. La grande sélectivité apportée par le MIP a permis une nette amélioration de l'étape de purification des échantillons biologiques notamment pour l'urine améliorant de façon significative la sensibilité de la méthode. Dans le futur, la rétention sélective des métabolites sur le MIP sera également évaluée.

**Références :** [1] Pichon V, *Techniques de l'ingénieur*, décembre 2006, p. 1420. [2] Hugon-Chapuis F, Pichon V. *Ann Toxicol Anal.* 2007; 19: 239-251.