

Lettre à la rédaction : GHB : un contrôle (de qualité) de qualité

Marion VILLAIN*, Pascal KINTZ

Institut de Médecine Légale, 11, rue Humann - F-67000 STRASBOURG - FRANCE

* Auteur à qui adresser la correspondance : Marion VILLAIN, Laboratoire de Toxicologie, Institut de Médecine Légale, 11, rue Humann - 67000 STRASBOURG - Tél : 03 90 24 33 56 - e-mail : marion.villain@netcourrier.com

(Reçu le 21 octobre 2002 ; accepté le 24 octobre 2002)

Introduction

Synthétisé à partir de l'acide gamma-butyrique (GABA), le GHB (acide gamma-hydroxybutyrique) est présent naturellement dans l'organisme des mammifères.

Commercialisé dès 1961, sa seule indication, à ce jour, réservée au milieu hospitalier, est l'anesthésie générale. Les caractéristiques pharmacologiques du GHB sont à l'origine de son utilisation détournée croissante. On retrouve ce stupéfiant dans les populations recherchant des effets récréatifs (sédatifs, hypnotiques, euphorisants) ou des effets dopants par libération de l'hormone de croissance.

Récemment, le GHB a été retrouvé dans plusieurs affaires judiciaires suite à des soumissions chimiques et des pratiques criminelles ; ce sont alors les effets sédatifs, désinhibiteurs et amnésiques du GHB qui sont recherchés.

Le GHB est inscrit sur la liste des stupéfiants depuis le 5 mai 1999.

Après ingestion, le GHB est rapidement absorbé, les premiers effets apparaissent en 15 à 30 minutes et persistent 2 à 4 heures. Éliminé principalement sous forme de CO₂ expiré, on retrouve 1 à 5 % de GHB inchangé dans les urines. L'élimination urinaire est totale en 12 heures.

Du fait de son incidence médico-légale croissante, il apparaît nécessaire aux laboratoires de toxicologie de pouvoir effectuer sa caractérisation en routine.

Il existe deux approches de dosage du GHB dans les urines, faisant toutes deux appel à la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). La première consiste en un dosage direct du GHB, soit par une méthode ultra rapide de précipitation à l'acétonitrile (1), soit par une extraction liquide-liquide en milieu acide (2). La seconde s'effectue par le dosage de la gamma-butyrolactone (GBL) après transformation, à partir du GHB, à chaud en milieu acide (3).

Méthode de l'IML de Strasbourg

Cette méthode est applicable aux échantillons sanguins et urinaires.

Dans un tube à bouchon vissant de type Chromacol, sont ajoutés successivement, 20 µl d'urine, 45 µl d'acétonitrile et 500 ng de GHB-d₆ (standard interne).

Après agitation horizontale (15 min à 95 cycles/min) et centrifugation (10 min à 3500 rpm), le surnageant est récupéré puis évaporé sous azote.

La dérivation s'effectue avec 35 µl de BSTFA-1 % TMCS, 25 min à 70° C.

1 µl est injecté dans une colonne HP5-MS (30 m x 0,25 mm) d'un système de chromatographie gazeuse (HP 5890) couplé à un détecteur de masse (HP 5973), en mode impact électronique et full scan.

Les ions de quantification sont m/z 233, (204, 147) et 239 pour le GHB et le GHB-d₆ respectivement.

La linéarité a été vérifiée en triple, de 10 à 200 mg/l, en 6 points (0,990 < R² < 0,997).

La précision sur un jour, réalisée à partir d'urine surchargée avec 10 et 100 mg/l de GHB, en 8 exemplaires, est de 6,5 et 10,5 % respectivement.

La précision sur plusieurs jours, réalisée de la même façon, est de 7,7 et 11,3 %.

La limite de détection (concentration dont le signal correspond à trois fois le bruit de fond) est de 0,2 mg/l.

Échantillon du contrôle de qualité

Après administration par voie orale de GHB dosé à 30 mg/kg à un volontaire masculin, les urines ont été recueillies sur flacon sec, puis additionnées de fluorure

de sodium à 0,5 %. Un échantillon urinaire de 5 ml correspondant à l'excrétion de la huitième heure a été envoyé à 16 laboratoires français par la poste. Les résultats devaient nous être retournés sous 3 semaines.

Résultats et discussion

Dans le temps imparti, 10 laboratoires ont rendu des résultats, repris dans le tableau 1.

Les concentrations urinaires varient de 100 à 137 mg/l, avec une moyenne de 116 mg/l, un coefficient de variation de 9,72 % et un écart type de 11,3 mg/l.

Ces résultats sont très satisfaisants et démontrent une bonne cohérence inter-laboratoires.

Tous les laboratoires utilisent le GHB-d₆ comme standard interne.

La moitié des laboratoires fait une précipitation à l'acétonitrile, tandis que l'autre moitié effectue une extraction de type liquide-liquide en milieu acide.

La dérivation par silylation est de règle, même si les agents dérivants peuvent être différents.

Il apparaît qu'aucun des laboratoires ayant rendu ses résultats n'ait retenu la conversion en GBL comme procédure analytique.

En conclusion, les différentes approches analytiques sont équivalentes et il n'est pas possible de se prononcer quant à la méthode la plus précise et la plus juste.

Références

1. Verstraete A., Van de Velde E., de Paepe P., Rossel M.T. Determination of gamma-hydroxybutyrate (GHB) in serum or plasma with GC/MS. In : Lech T., ed. Problems of forensic sciences, vol XLII. Cracow : IES. 2000 : 195-201.
2. Elian A.A. A novel method for GHB detection in urine and its application in drug-facilitated sexual assaults. Forensic Sci.Int. 2000 ; 109 : 183-7.
3. LeBeau M.A., Montgomery M.A., Miller M.L., Burmeister S.G. Analysis of biofluids for gamma-hydroxybutyrate (GHB) and gamma-butyrolactone (GBL) by headspace GC-FID and GC-MS. J. Anal. Toxicol. 2000 ; 24 : 421-8.

Tableau I : Compendium des résultats analytiques.

Laboratoires	Concentrations (mg/L)	Méthode de dosage
IML Strasbourg	120	voir texte
2	106	20 µl urine + GHB-d ₆ précipitation par l'acétonitrile dérivation BSTFA+1% TMCS
3	100	20 µl urine + GHB-d ₆ précipitation par l'acétonitrile dérivation CH ₃ CN + BSTFA+1% TMCS
4	127	200 µl urine + GHB-d ₆ extraction liquide/liquide en milieu acide dérivation BSTFA+1% TMCS
5	104	extraction liquide/liquide en milieu acide dérivation MTBSTFA
6	124	50 µl urine + GHB-d ₆ lavage en milieu basique extraction liquide/liquide en milieu acide dérivation BSTFA+1% TMCS
7	137	200 µl urine + GHB-d ₆ extraction liquide/liquide en milieu acide dérivation BSTFA+1% TMCS
8	114	50 µl urine + GHB-d ₆ extraction liquide/liquide en milieu acide dérivation BSTFA+1% TMCS + TSIM
9	115	50 µl urine + GHB-d ₆ précipitation par l'acétonitrile dérivation BSTFA+1% TMCS
10	115	20 µl urine + GHB-d ₆ précipitation par l'acétonitrile dérivation BSTFA + 1% TMCS