

Lettre à la rédaction :  
Soumission chimique au clonazépam :  
caractérisation formelle par chromatographie  
en phase gazeuse couplée à la spectrométrie  
de masse tandem (CPG-SM/SM)

*Letter to the editor:  
Drug-facilitated crime assault : positive iden-  
tification of clonazepam by gas  
chromatography-tandem mass spectrometry  
(GC-MS/MS)*

---

Marion VILLAIN<sup>(1)\*</sup>, Véronique DUMESTRE-TOULET<sup>(2)</sup>,  
Bertrand LUDES<sup>(1)</sup>, Pascal KINTZ<sup>(1)</sup>

---

(1) Institut de Médecine Légale, 11, rue Humann - 67000 STRASBOURG

(2) Laboratoire BIOOffice - ARTIGUES-près-BORDEAUX

---

\* Auteur à qui adresser la correspondance : Marion VILLAIN, Institut de Médecine Légale, 11, rue Humann  
67000 STRASBOURG - Tél : 03 90 24 33 56 - Fax : 03 90 24 33 62 - E-mail : Marion.Villain@iml-ulp.u-strasbg.fr

---

(Reçu le 24 septembre 2003 ; accepté le 24 octobre 2003)

## Introduction

Le concept de soumission chimique suppose l'administration d'un produit actif à l'insu d'une personne afin de provoquer une modification de son degré de vigilance, de son état de conscience et de ses capacités de jugement, dans le sens d'un affaiblissement. Les produits sont majoritairement incorporés dans des boissons, essentiellement le café ou les préparations alcoolisées. Selon les agresseurs, le produit idéal est celui

qui est actif à faible dose, rapidement soluble en milieu aqueux, sans goût, dont les effets sont rapides à s'instaurer et qui provoque une amnésie des faits (1).

## Cas clinique

Le cas rapporté ici est celui d'une jeune femme de 27 ans qui entretient une relation intime avec son médecin depuis quelques mois.

Selon le procès-verbal d'audition, elle se rend au domicile de celui-ci pour mettre fin à leur histoire le 23 août 2002 au soir. Il lui offre un jus d'ananas et insiste pour qu'elle le boive en entier, prétextant que c'est son anniversaire et que la tradition le veut ainsi.

A partir de ce moment-là, la jeune femme ne se souvient plus de rien. Le lendemain matin, dans un état stuporeux elle est tout d'abord emmenée chez un médecin généraliste par une amie avant d'être hospitalisée, à 10 h 40. A 18 h 00, soit environ 24 heures après les faits, le médecin légiste réalise des prélèvements sanguins et urinaires. La jeune femme reprend réellement connaissance 48 heures plus tard et sort de l'hôpital contre avis médical. Aucun prélèvement de cheveux n'est effectué. La jeune femme porte plainte le 26 août 2002.

## Matériel et méthode

Les échantillons recueillis en août 2002 ont été conservés au congélateur et analysés en avril 2003, suite à la réception tardive de la réquisition. Le screening toxicologique complet par HPLC-DAD a mis en évidence dans le sang du clonazépam (principe actif du Rivotril®), à la concentration de 34 ng/mL, et des traces de son métabolite le 7-aminoclonazépam (2).

Compte tenu des circonstances, il était indispensable de confirmer la présence de clonazépam par une autre méthode spectrale, hautement spécifique. Le sang ayant été épuisé lors de la première étape, nous avons reçu un échantillon urinaire, que nous avons analysé par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse tandem (CPG-SM/SM). Pour cela, une extraction liquide-liquide en milieu alcalin a été réalisée. Deux ml d'urine ont été incubés une nuit à 40° C, dans 1 ml de tampon pH 9,6, avec 200 µL de β-glucuronidase (20 000 UI), en présence de 100 ng de diazepam-D<sub>5</sub> utilisé comme étalon interne. Après ajout de 5 mL du mélange ternaire chloroforme/isopropanol/n-heptane (25/10/65), agitation et centrifugation, la phase organique a été évaporée à sec. La dérivation a été effectuée à 60° C, pendant 30 min, par 100 µL d'HFBA et 50 µL d'acétate d'éthyle. Après évaporation sous azote et reprise dans 20 µL d'acétate d'éthyle, 2 µL ont été injectés dans le système de CPG-SM/SM. Ce système consiste en un chromatographe gazeux HP (6890) couplé à un spectromètre de masse tandem Finnigan (TSQ 700). L'injection a été réalisée en mode splitless (injecteur : 270° C). La séparation chromatographique a été obtenue sur une colonne Optima 5-MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), traversée par de l'hélium N 55 à une pression de 10 psi, à l'aide d'une rampe de température (30° C/min). La température initiale était de

60° C (maintenue 1 min) et la température finale de 295° C (maintenue 6 min). Le détecteur de masse a été utilisé en mode ionisation chimique négative (gaz réactant : méthane), avec une énergie d'ionisation de 70 eV et une température de source de 120° C. L'acquisition a été réalisée en mode SRM (selected reaction monitoring). Les ions parents ainsi que les ions fils détectés dans le troisième quadripôle après collision avec de l'argon (chambre de collision : 0,6 mT) sont donnés dans le tableau I.

Cette méthode spécifique permet d'obtenir des limites de détection de 1 ng/mL pour le clonazépam et 0,2 ng/mL pour le 7-amino-clonazépam dans les urines.

**Tableau I :** Paramètres d'identification du clonazépam et de son métabolite.

Molécules	ion parent (m/z)	ions fils (m/z)	Rt (min)
clonazépam	314,8	232,1 ; 249,1 ; 279,1	14,0
7-aminoclonazépam	460,8	130,8 ; 310,2	12,3
diazépam-D <sub>5</sub> (EI)	289,0	231,9 ; 289,2	10,8

## Résultats

Le chromatogramme obtenu lors de l'analyse de l'extrait urinaire est représenté figure 1. Les concentrations mesurées sont de 3,3 ng/mL pour le clonazépam et 82,0 ng/mL pour le 7-amino-clonazépam et confirment sans ambiguïté une exposition au Rivotril®. Ces concentrations sont très probablement sous-estimées du fait de l'instabilité du clonazépam dans le temps (45 % restants après 6 mois au congélateur (3)) et le temps écoulé entre les prélèvements et les analyses.

L'usage de ce produit dans le cadre de la soumission chimique n'est pas rare. Goullé et Anger (4) rapportent le cas d'un homme de 55 ans consultant en neurologie pour trouble de la mémoire et de la motricité, lors d'un déplacement professionnel où il a constaté que ses espèces ainsi que des chèques avaient disparu. Il se rappellera quelques jours plus tard, avoir bu une boisson gazeuse à l'orange au goût amer, en compagnie d'une relation de passage.

Du clonazépam a également été retrouvé par Pépin et coll. (5) dans le cadre d'une agression sexuelle où la victime se souvient être entrée dans un « état second » la veille, lors d'un dîner avec une de ses connaissances. La jeune femme rapportait des phases de somnolence et d'euphorie, après avoir été transportée en moto et avoir eu un rapport sexuel.

Enfin LeBeau confirmait récemment (6) que dans le cadre des agressions sexuelles, le clonazépam, était davantage utilisé aux États-Unis que le flunitrazépam, du fait d'une plus grande disponibilité.

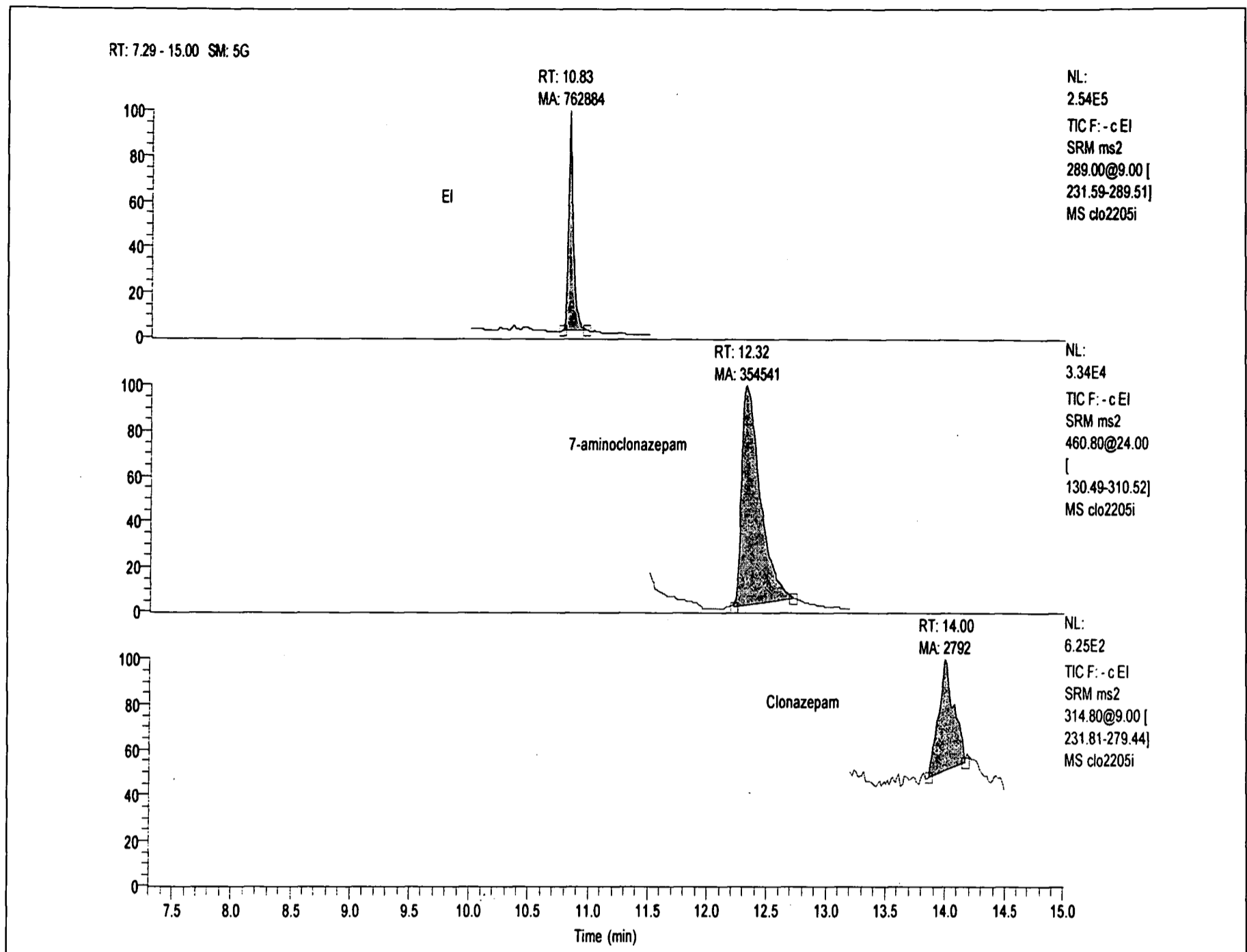


Figure 1 : Chromatogramme de l'extrait urinaire représentant, de haut en bas, l'étalon interne (diazepam-d5), le 7-aminoclonazépam et le clonazépam.

## Conclusion

Compte tenu des implications médico-légales, chaque affaire de soumission chimique doit être documentée au mieux par des expertises toxicologiques approfondies. Malgré une demi-vie plasmatique longue, le clonazépam répond aux impératifs des produits utilisés dans ces crimes. Sa mise en évidence, plusieurs mois après les faits, a été grandement facilitée par l'utilisation de la chromatographie couplée à la spectrométrie de masse tandem, qui apparaît comme un outil indispensable pour ce type d'investigation.

## Références

1. Djezzar S., Questel F., Dally S., La soumission médicamenteuse. *Courrier Addictions* 2001 ; 3 : 164.
2. Tracqui A., Kintz P., Mangin P., Systematic toxicological analysis using HPLC/DAD. *J. Forensic Sci.* 1995 ; 40 : 254-62.
3. Pépin G., Dubourvieux N., Gaillard Y., Wacheux C., Cheze M., Etude de la dégradation post-mortem de 20 benzodiazépines, 9 métabolites, de la buspirone, du zolpidem et de la zopiclone dans le sang total à -20° C, 4° C, 25° C, 40° C pendant 6 mois. *Toxicorama* 1998 ; 10 : 153-62.
4. Goullé J.P., Anger J.P. Effet amnésiant des hypnotiques médicamenteux. *Revue de la littérature. Cas personnels. Ann. Toxicol. Anal.* 2002 ; 14 : 381-9.
5. Pépin G., Chèze M., Duffort G., Vaysette F. De l'intérêt des cheveux et de la spectrométrie de masse tandem pour la soumission chimique : à propos de 9 cas. *Ann. Toxicol. Anal.* 2002 ; 14 : 395-406.
6. LeBeau M. The toxicological challenges of drug-facilitated sexual assault : the US perspective. 8th congress of International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology. 7-11 septembre 2003, Basel, Suisse.