

Revue générale

Le dépistage immunochimique des médicaments substitutifs de l'héroïne et autres opioïdes

Immunochemical detection of drugs used for the management of heroin dependence and other opioids

Jean-Claude Alvarez*

Laboratoire de Pharmacologie – Toxicologie, Centre Hospitalier Universitaire Raymond Poincaré, AP-HP, et Université Versailles Saint Quentin, 104 Boulevard Raymond Poincaré, 92380 Garches, France

Résumé – Selon l'Observatoire Français des Drogues et Toxicomanie, en 2007, de 12 000 à 15 000 patients étaient traités par méthadone et plus de 80 000 par buprénorphine. Pouvoir effectuer un dépistage rapide de ces deux molécules par immunoanalyse est donc important, aussi bien pour vérifier la compliance, obligatoire pour les patients traités par méthadone, que dans un cadre médico-légal où ces molécules sont retrouvées dans plus de 8 % des recherches de causes de décès. De nombreuses études ont été publiées à ce jour sur les différents tests commercialisés. Ceux-ci sont le plus souvent validés pour un usage dans les urines, mais également dans le sang total, le plasma, le sérum, la salive et/ou les cheveux en ce qui concerne les kits ELISA. Les seuils de positivité varient de 5 à 300 ng/mL pour la méthadone et de 0,5 à 5 ng/mL pour la buprénorphine en fonction des tests et des matrices biologiques. Dans les cheveux, les seuils proposés sont de l'ordre de 200 pg/mg pour la méthadone et de 10 pg/mg pour la buprénorphine. L'EDDP, principal métabolite de la méthadone, ne croise pas avec l'anticorps dirigé contre la méthadone, mais il existe des tests spécifiques pour l'EDDP. Pour la buprénorphine, les taux de croisement avec la norbuprénorphine varient de 1 à 100 %. Différentes molécules fréquemment prescrites comme le vérapamil, certains neuroleptiques, la diphényldramine et la doxylamine peuvent parfois donner des résultats faussement positifs avec les tests méthadone et le tramadol ou la dihydrocodéine avec ceux pour la buprénorphine. Plus récemment, des tests d'immunoanalyse permettant la recherche des nouveaux opioïdes utilisés en thérapeutique et ne croisant pas ou partiellement avec la recherche classique des opiacés ont été développés. C'est le cas notamment du dextropropoxyphène, de l'oxycodone et du fentanyl. Ces tests, sur lesquels relativement peu d'études sont encore disponibles, peuvent s'avérer intéressants dans certains cas.

Mots clés : Immunoanalyse, méthadone, buprénorphine, traitements de substitution, opioïdes

Abstract – In France in 2007, between 12 000 and 15 000 patients were treated by methadone and more than 80 000 by buprenorphine. A rapid detection of these two compounds has to be available for the monitoring of these patients, or in forensic cases since these compounds are found in more than 8% of the deceases. Many studies were published on the different marketed tests. All these tests were validated in urine, but many of them, notably ELISA tests, were also validated in whole blood, serum, plasma, oral fluid or hair. The used cut-offs were in the range 5–300 ng/mL for methadone and 0.5–5 ng/mL for buprenorphine depending on the tests and the matrix. In hair, the proposed cut-offs were 200 pg/mg for methadone and 10 pg/mg for buprenorphine. The cross-reactivity of EDDP, the main metabolite of methadone, is very low, but some tests used a specific antibody for this metabolite. The cross-reactivity of norbuprenorphine, the main metabolite of buprenorphine, is in the range 1–100%. False-positives for methadone were attributable to metabolites of verapamil, some neuroleptics, diphenhydramine and doxylamine and to tramadol and dihydrocodeine for buprenorphine tests. More recently, immunotests have been developed for the screening of opioid drugs that are not detected by usual opiate immunoassay, like dextropropoxyphene, oxycodone and fentanyl. These tests may be very interesting in some cases.

Key words: Immunoanalysis, methadone, buprenorphine, substitution therapy, opioid drugs

Reçu le 1^{er} mars 2009, accepté après modifications le 1^{er} avril 2009
Publication en ligne le 12 mai 2009

* Correspondance : Jean-Claude Alvarez, Tél. 01 47 10 79 38, Fax 01 47 10 79 23, jean-claude.alvarez@rpc.aphp.fr

1 Introduction

En 2007, environ 100 000 patients sont traités en France par des médicaments substitutifs de l'héroïne. Entre 12 000 et 15 000 patients sont traités par la méthadone et plus de 80 000 par la buprénorphine haut dosage (BHD) [1]. Jusqu'en 2002, la prescription initiale de méthadone était réservée aux Centres Spécialisés de Soins aux Toxicomanes [2]. Depuis janvier 2002, pour équilibrer le nombre de patients traités par méthadone et par BHD, tout médecin exerçant en établissement de santé est habilité à proposer un traitement de substitution à base de méthadone aux toxicomanes dépendants majeurs aux opiacés [3].

Pour la méthadone, le suivi des patients est obligatoire dans le cadre de la législation [2]. Par ailleurs, la récente mise sur le marché d'une forme gélule majeure le risque de diffusion via des circuits parallèles, pouvant conduire à son utilisation par des sujets naïfs aux opiacés ou peu dépendants, pour lesquels le risque de décès peut être observé à une dose très faible de l'ordre de 1 mg par kg. La méthadone sous forme gélule présente également un risque plus élevé d'utilisation détournée par voie intraveineuse.

Pour la buprénorphine, réputée moins toxique, le risque est l'injection. On considère que près de la moitié des utilisateurs de BHD a recours à cette voie d'administration [4]. Une nouvelle forme de BHD sera bientôt disponible en France, le Suboxone®, qui devrait permettre de limiter ce risque. En effet, cette nouvelle spécialité associe buprénorphine et naloxone. Par voie sublinguale, seule la buprénorphine passe dans la circulation générale pour exercer son action (la naloxone, qui n'est pas absorbée par cette voie, n'a aucun effet). En revanche en cas d'administration par voie intraveineuse, la naloxone se fixe sur les récepteurs aux opiacés et empêche la buprénorphine d'agir. Chez un sujet physiquement dépendant aux opiacés, l'injection de suboxone entraîne donc rapidement un syndrome de manque aigu très désagréable.

Pouvoir effectuer un dépistage rapide de la méthadone et de la buprénorphine par immunoanalyse est donc important, aussi bien pour vérifier la compliance, obligatoire pour les patients traités par méthadone, que dans un cadre médico-légal où ces molécules sont retrouvées dans plus de 8 % des recherches de causes de décès [5]. Par ailleurs, un certain nombre de substance de type opioïdes ne sont pas reconnues par la recherche classique des opiacés. C'est le cas notamment du dextropropoxyphène, de l'oxycodone et du fentanyl. Nous verrons qu'il existe depuis peu des tests d'immunoanalyse qui permettent de détecter spécifiquement ces molécules.

2 La méthadone

2.1 Pharmacologie

Il s'agit d'un dérivé synthétique de l'opium. La méthadone est un agoniste des récepteurs μ . Ses propriétés analgésiques sont similaires à celle de la morphine. C'est une molécule chirale, avec deux énantiomères, la forme (R) et la forme (S). La forme (R) a 10 fois plus d'affinité sur les récepteurs μ et elle possède une activité analgésique 50 fois plus importante que

la forme (S) [6]. Elle présente des propriétés euphorisantes relativement faibles par rapport à celles de l'héroïne, mais avec une forte dépendance. Son pouvoir dépressur des voies respiratoires est supérieur à celui de la morphine.

2.2 Pharmacocinétique

La méthadone est bien absorbée après administration par voie orale avec une biodisponibilité de l'ordre de 75 % [7]. Sa pharmacocinétique présente une forte variabilité interindividuelle, d'une part du fait qu'elle est le substrat de la glycoprotéine P (P-gP) [8], et d'autre part parce qu'elle subit un métabolisme par le cytochrome 3A4, à l'origine d'une N-déméthylation suivie d'une cyclisation pour aboutir au métabolite majeur de la méthadone, l'EDDP. C'est essentiellement la forme (S) qui subit le métabolisme, la forme (R) étant principalement éliminée sous forme inchangée [9]. Cette élimination se fait pour un tiers dans les urines sous forme inchangée, un tiers dans les urines sous forme d'EDDP et un tiers dans les fèces sous forme d'EDDP.

Lors du suivi thérapeutique pharmacologique de la méthadone, la valeur cible sanguine s'établit vers 400 ng/mL. Une concentration inférieure à 100 ng/mL est considérée le plus souvent comme inefficace et une concentration supérieure à 1000 ng/mL est fréquemment associée à des signes de toxicité [10]. Une concentration supérieure à 2000 ng/mL est le plus souvent fatale. Chez le sujet naïf d'opiacés, cette concentration létale peut être aussi basse que 200 ng/mL. On observe d'ailleurs un nombre croissant de décès à la méthadone [5], et il est fréquent de constater que ces décès surviennent chez des sujets dont les concentrations sanguines ne sont pas nécessairement très élevées. Ces décès ne sont pas des décès rapides comme lors d'une overdose d'héroïne et s'accompagnent souvent d'un œdème pulmonaire marqué.

2.3 Utilisation et formes galéniques

La première prescription de méthadone dans le cadre d'une substitution aux opiacés se fait en France en Centre Spécialisé de Soins aux Toxicomanes après une première analyse urinaire permettant de vérifier l'absence de méthadone (et éviter ainsi d'inclure des patients déjà traités) et la dépendance aux opiacés par une recherche positive aux opiacés classiques. La première dose, administrée après plus de 10 h d'abstinence, sera relativement faible au départ, de l'ordre de 20 à 30 mg puis augmentée progressivement d'environ 10 mg par semaine jusqu'à la dose idéale située souvent entre 60 et 100 mg par jour. Chez le sujet naïf, une dose de 1 mg par kg (à l'origine d'une concentration sanguine de 200 à 300 ng/mL) est considérée comme potentiellement létale. Deux formes galéniques de méthadone sont disponibles : une forme sirop, existant aux doses de 5, 10, 20, 40 et 60 mg et plus récemment une forme gélule a été commercialisée par l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris aux doses de 1, 5, 10, 20 et 40 mg. Pour éviter la revente, cette dernière forme doit être réservée aux patients stabilisés et abstinents depuis au moins un an.

Tableau I. Caractéristiques des tests de dépistage de la méthadone.

Matrice	Molécule détectée par l'Ac	Seuil de positivité	Composé majoritaire	Ratio métabolite/parent	Référence
Urines	- Méthadone	300 ng/mL	EDDP	>1	[11, 12, 14]
	- EDDP	100–200 ng/mL			[13]
Sang total même <i>post mortem</i> , sérum, plasma	- Méthadone	25–50 ng/mL	Méthadone	<1	[10, 15, 16]
	- Méthadone (R)				[17]
Salive	Méthadone	5–30 ng/mL	Méthadone	<1	[18–20]
Cheveux	Méthadone	200 pg/mg	Méthadone	<1	[21]
Méconium	Méthadone	200 ng/g	EDDP	>1	[22]

2.4 Les recherches en immunoanalyse

Le suivi urinaire des patients traités par méthadone en France est obligatoire. Il existe pour cela de très nombreux tests utilisant différents types de techniques : EMIT, FPIA, CEDIA, KIMS, ELISA... Ces tests utilisent deux types d'anticorps : ceux dirigés contre la méthadone et ceux dirigés contre le métabolite, l'EDDP. Les deux types d'anticorps ne présentent pas de réactivité croisée (tableau I). L'intérêt de l'utilisation d'un anticorps dirigé contre le métabolite est la détection des urines falsifiées, dans lesquelles de la méthadone peut avoir été rajoutée après émission, mais qui ne contiennent donc pas le métabolite. Une étude récente réalisée en 2008 par Cone et coll. [11] a montré que sur 1209 urines analysées provenant de patients prenant de la méthadone, 81,1 % de ces urines contiennent les deux composés, 12,7 % contiennent de l'EDDP seul et 6,2 % contiennent de la méthadone seule, sans que ces dernières urines n'aient été falsifiées. Le métabolite étant retrouvé plus souvent au niveau urinaire que le produit parent, l'utilisation d'un anticorps dirigé contre l'EDDP semble donc plus adéquate pour le dépistage de la consommation de méthadone dans les urines.

Ces recherches en immunoanalyse sont validées dans de nombreuses matrices. La plus utilisée est bien entendu l'urine [12, 13]. Le seuil de positivité utilisé est habituellement de 300 ng/mL pour la méthadone et entre 100 et 200 ng/mL pour l'EDDP. Ce seuil plus bas utilisé pour l'EDDP rend le dépistage plus sensible d'autant plus que, généralement, les concentrations d'EDDP retrouvées au niveau urinaire sont supérieures à celles de la méthadone [11, 14].

Ces recherches sont également validées pour certains tests dans d'autres matrices comme le sang total, le sérum ou le plasma. Les seuils utilisés sont compris entre 25 et 50 ng/mL. Deux études ont par ailleurs montré de bons résultats en utilisant ces tests dans un cadre semi-quantitatif comparativement à la CG/SM [10, 15]. Certains tests ELISA ont même été utilisés avec de très bons résultats dans le sang *post mortem*, puisque seuls deux faux positifs ont été retrouvés, mais qui se sont avérés après confirmation en CG/SM contenir de la méthadone à une concentration inférieure au seuil de positivité fixé à 50 ng/mL dans cette étude [16]. Un test utilisant des anticorps spécifiques de la forme (R) de la méthadone a été développé, permettant ainsi de séparer la détection de la forme (R) active de celle de la forme racémique [17]. D'autres études ont été réalisées dans la salive en utilisant des seuils

de positivité compris entre 5 et 30 ng/mL [18–20]. L'étude de Cone et coll. [18], réalisée sur 998 salives prélevées chez des patients traités par méthadone, a montré que la méthadone elle-même est toujours présente dans les salives, soit seule dans 69,9 % des cas, soit associée à l'EDDP uniquement dans 30,1 %. Les concentrations retrouvées sont par ailleurs nettement plus élevées en méthadone (432 ± 37 ng/mL) qu'en EDDP ($62 \pm 8,7$ ng/mL), d'où l'importance d'utiliser un anticorps dirigé contre la méthadone dans cette matrice. Les cheveux ont été étudiés par l'équipe de Cooper et coll. [21] en utilisant un seuil de positivité fixé à 200 pg/mg avec une prise d'essai de 20 mg de cheveux. Avec ce seuil, cette étude a montré une spécificité de 100 % et une sensibilité de 95 %. En effet, deux faux négatifs ont été retrouvés, contenant en réalité tout juste 200 pg/mg (valeur du seuil de positivité) de méthadone sans EDDP. Cette étude a permis par ailleurs de montrer que comme fréquemment observé dans les cheveux, le produit parent est incorporé en plus grande quantité que le métabolite (0,1 à 8,3 ng/mg de méthadone contre 0,1 à 1,2 ng/mg d'EDDP). Enfin une étude a été réalisée dans le méconium [22], utilisant un anticorps dirigé contre la méthadone, et qui a permis de montrer, compte tenu du nombre important de résultats faussement négatifs, que la molécule majoritaire dans ce milieu est l'EDDP (28,5 à 557,2 ng/g) et non la méthadone (35,2 ng/g à 79,9 ng/g), d'où l'importance d'utiliser pour le dépistage non pas un anticorps dirigé contre la méthadone mais un anticorps dirigé contre l'EDDP.

Il existe par ailleurs différentes substances qui semblent croiser avec la recherche de méthadone en immunoanalyse. La quetiapine, neuroleptique qui n'est pas commercialisé en France [23], certains métabolites du vérapamil [24], certains neuroleptiques comme la cyamémazine, la lévomépromazine et l'alimémazine [25], la diphényldramine [26] et enfin la doxylamine [27] semblent pouvoir donner des réactions faussement positives.

3 La buprénorphine

3.1 Pharmacologie

La buprénorphine est un dérivé d'hémisynthèse de la thébaïne, alcaloïde naturel de l'opium. Elle dérive d'une molécule de référence, l'oripavine. C'est un agoniste partiel des récepteurs μ , ce qui limite les effets dépressifs notamment

Tableau II. Caractéristiques des tests de dépistage de la buprénorphine.

Matrice	Molécule détectée par l'Ac	Seuil de positivité	Composé majoritaire	Ratio métabolite/parent	Référence
Urines	- BUP libre + conjuguée	0,5–5 ng/mL	NOR	>1	[29, 31–34]
	- BUP et NOR libre	5 ng/mL			
Sang total, sérum, plasma	BUP	0,5–5 ng/mL	BUP	<1	[29]
Salive	BUP	1 ng/mL	BUP	<1	[29, 35]
Cheveux	BUP	10 pg/mg	NOR	>1	[29]

BUP = buprénorphine, NOR = norbuprénorphine.

cardiorespiratoires. Elle présente une très forte affinité pour ces récepteurs, 50 fois plus importante que la morphine par exemple. Ses propriétés euphorisantes sont faibles, et il n'y a pas d'effet « flash » lorsqu'elle est administrée par voie parentérale. Son action analgésique est 30 à 40 fois plus puissante que la morphine.

3.2 Pharmacocinétique

Il existe pour la buprénorphine un important effet de premier passage hépatique, rendant la biodisponibilité de cette molécule par voie orale relativement faible, de l'ordre de 20 %. Lors d'une utilisation par voie sublinguale, cette biodisponibilité est nettement plus élevée, environ 75 %. La buprénorphine subit un métabolisme hépatique par les cytochromes 3A4, entraînant une N-déalkylation à l'origine de la norbuprénorphine. L'élimination s'effectue essentiellement par les fèces (80 %) et les urines (20 %) majoritairement sous forme conjuguée. Le dosage dans les urines devra donc être réalisé après hydrolyse. Une technique sans hydrolyse en chromatographie liquide couplée à une détection par spectrométrie de masse tandem a toutefois été publiée permettant le dosage simultané de la buprénorphine et des métabolites conjugués et non conjugués [28]. Les concentrations sanguines thérapeutiques sont comprises entre 1 et 5 ng/mL, les signes de toxicité pouvant commencer à apparaître dès 5 ng/mL. Il existe en principe un « effet plafond » avec la buprénorphine, c'est-à-dire une absence de risque de surdosage et d'overdose du fait de son effet agoniste partiel. Pourtant, un certain nombre de décès sont régulièrement publiés dans la littérature, la buprénorphine étant alors systématiquement associée à d'autres dépresseurs du système nerveux central [5].

3.3 Utilisation et formes galéniques

Il existe deux formes commercialisées en France, le Temgésic[®] et le Subutex[®]. Une troisième forme, le Suboxone[®], devrait être commercialisée durant l'année 2009. Le Temgésic[®] est sous forme de comprimés sublinguaux dosés à 0,2 mg et réservés au traitement des douleurs. Le Subutex[®] est composé de comprimés sublinguaux dosés à 0,4,

2 et 8 mg. Enfin, le Suboxone[®] associera 2 mg de buprénorphine à 0,5 mg de naloxone ou 8 mg de buprénorphine à 2 mg de naloxone.

3.4 Les recherches en immunoanalyse

Le suivi des patients par recherche de buprénorphine dans leurs urines n'est pas obligatoire dans les programmes de substitution à cette molécule en France. Il existe plusieurs tests commercialisés, utilisant la technologie CEDIA ou ELISA. Tous ces tests utilisent des anticorps dirigés contre la buprénorphine elle-même. Le taux de croisement avec la norbuprénorphine est très variable en fonction de ces tests. L'anticorps est très spécifique de la buprénorphine pour certains, avec un taux de croisement de l'ordre de 1 % [29] à 3 % [30], ou reconnaît pratiquement les deux molécules de manières similaires pour d'autres, avec un taux de croisement de 78% [31]. Ces anticorps reconnaissent en fait la buprénorphine libre et conjuguée de la même manière. Toutefois, il existe un test spécifique de la buprénorphine et de la norbuprénorphine libre dans les urines, dont l'anticorps détecte de la même manière les deux composés (taux de croisement de 100 % [32]).

Ces tests ont été validés dans de nombreuses matrices. Les urines, bien entendu, où les seuils de positivité utilisées varient entre 0,5 ng/mL [29, 31], 2 ng/mL [30] et 5 ng/mL [32–34]. Toutefois, l'utilisation d'un seuil trop bas, comme 0,5 ng/mL, s'accompagne d'un certain nombre de faux positifs, plus de 26,5 % dans l'étude de Cirimele et coll. [29], mais permet d'éviter tout faux négatif, ce qui est obligatoire notamment en toxicologie médico-légale.

D'autres matrices sont également validées pour les tests ELISA. Le plasma, le sérum et le sang total par exemple [29], où les seuils de positivité sont similaires à ceux des urines, avec les mêmes remarques (15,7 % de faux positifs dans l'étude de Cirimele et coll.). La salive a été utilisée avec un seuil de positivité de 1 ng/mL [18]. Sur 276 testées positives, 58 % de ces salives contenaient la buprénorphine et son métabolite, 37,3 % ne contenaient que de la buprénorphine et seulement 4,7 % contenaient de la norbuprénorphine seule. Les concentrations mesurées montraient par ailleurs que la buprénorphine présentait des concentrations bien plus importantes ($433 \pm 82,6$ ng/mL) que la norbuprénorphine ($5,0 \pm 0,7$ ng/mL)

dans la salive. Enfin, les cheveux ont également été testés [29], avec un seuil de positivité fixé à 10 pg/mg sur une prise d'essai de 30 mg de cheveux, permettant d'obtenir 8 % de faux positifs et là encore l'absence de faux négatif. Contrairement à la méthadone, les concentrations les plus importantes retrouvées dans les cheveux sont celles du métabolite et non celles mesurées pour le produit parent [35, 36].

Certaines substances prises concomitamment avec la buprénorphine semblent pouvoir donner une réaction faussement positive avec ces tests de dépistage. Il s'agit de la dihydrocodéine et du tramadol [34].

4 Les autres opioïdes

4.1 Le dextropropoxyphène

Il s'agit d'un dérivé synthétique de la méthadone, mais ne croisant pas avec le dépistage de la méthadone. Plusieurs tests sont commercialisés, utilisant les techniques EMIT, FPIA ou ELISA. L'anticorps utilisé dans ces tests est dirigé contre le dextropropoxyphène. Le taux de croisement avec le métabolite principal, le norpropoxyphène est variable. Il est par exemple de l'ordre de 7 % pour les kits EMIT II [37], 77 % avec les kits ELISA OnLine [38] et entre 29,3 % et 92,6 % pour la FPIA en fonction de la concentration [38]. Or l'étude de Cone et coll. [11] portant sur 538 urines de patients sous traitement par dextropropoxyphène, a montré que 50,4 % des urines contenaient du norpropoxyphène seul, 9,9 % contenaient le propoxyphène seul et 39,9 % contenaient les deux composés. Il est donc important que l'anticorps utilisé reconnaisse le mieux possible le métabolite. Ces tests sont utilisés essentiellement pour les urines, avec un seuil de positivité fixé à 300 ng/mL [39]. Ils ont été utilisés pour le dépistage dans les cheveux dans l'étude de Moore et coll. [40]. La prise d'essai était de 10 mg et le seuil de positivité fixé à 200 pg/mg. Toutefois, dans cette étude, aucun cas positif n'a été retrouvé, ne permettant donc aucune conclusion quant à la possibilité d'utiliser ces tests dans les cheveux. Deux types de substances semblent croiser avec certains tests utilisés pour la recherche du dextropropoxyphène, la diphényldramine et les dérivés tricycliques [39].

4.2 Le fentanyl

Le fentanyl est un analgésique opioïde, agoniste des récepteurs μ . Son potentiel analgésique est environ 300 fois plus important que celui de la morphine. Il est utilisé comme anesthésique intraveineux. Les concentrations sanguines circulantes sont extrêmement faibles, de l'ordre de 1 à 2 ng/mL pour une action analgésique et de 10 à 15 ng/mL pour une action anesthésique. Ces faibles concentrations rendent sa recherche en immunoanalyse délicate. Seuls les tests ELISA permettent à ce jour cette recherche. Ces tests utilisent des anticorps dirigés contre le fentanyl lui-même, avec des taux de croisement variables avec les métabolites. Or, là encore, ce sont les métabolites du fentanyl qui sont majoritaires dans les urines. Ce sont essentiellement les urines qui sont utilisées pour ce dépistage, avec des seuils de positivité de l'ordre de 0,5 ng/mL [41]

pour des concentrations habituellement retrouvées dans cette matrice de l'ordre de 87 ± 9 ng/mL chez des patients sous traitement [11]. Une étude a également utilisé ces tests pour un dépistage dans les cheveux, avec une prise d'essai de 10 mg et un seuil de positivité de 20 pg/mg [40]. Quatre échantillons ont été trouvés positifs avec ce seuil, puis confirmés par techniques chromatographiques, avec des concentrations retrouvées en fentanyl dans les cheveux de 12, 17, 490 et 1930 pg/mg.

4.3 L'oxycodone

C'est un dérivé de la thébaïne, agoniste des récepteurs μ et κ . Son action analgésique est 2 fois plus forte que la morphine. Elle est métabolisée par le cytochrome 2D6 en oxymorphone et noroxycodone, qui sont tous deux actifs mais retrouvés à concentrations trop faibles pour participer à l'activité pharmacologique. Elle est ensuite éliminée dans les urines sous forme inchangée libre et conjuguée pour environ 15 % de la dose administrée, et sous formes de métabolites libres et conjugués pour 50 à 60 %. L'oxycodone est peu ou pas reconnue par les recherches classiques des opiacés, quels que soient ces tests [42]. Des tests ELISA ont été développés spécifiquement, utilisant des anticorps dirigés contre l'oxycodone elle-même, avec des taux de croisement avec l'oxymorphone de 30 à 100 %. Ces tests ne donnent pas de réaction positive avec les opiacés classiques type morphine ou codéine, ni avec l'hydromorphone. Ils sont utilisés dans les urines, avec des seuils de positivité de l'ordre de 100 ng/mL [43, 44], les concentrations urinaires habituellement observées chez les patients sous traitement étant très élevées, 7600 ± 380 ng/mL dans l'étude de Cone et coll. [11] sur 2068 urines positives analysées.

5 Conclusion

L'immunoanalyse a réalisé d'importants progrès ces dernières années notamment avec les tests ELISA. Le problème de ces tests ELISA reste la préparation d'échantillon, notamment les lavages, d'où des techniques manuelles et longues. L'automatisation de ces procédures qui va se développer sera un atout majeur. La limite de détection souvent très basse de ces nouveaux tests permet leur utilisation dans des matrices autres que les urines, comme la salive ou les cheveux. Mais malgré ces progrès, les techniques de référence et de confirmation restent les méthodes chromatographiques, notamment celles couplées à une détection par spectrométrie de masse.

Références

1. Obradovik I, Canarelli T. An analysis of medical practices in hospital and penal environments since the introduction of the circular dated january 30, 2002. Tendances No. 60, avril 2008. <http://www.ofdt.fr/BDD/publications/docs/eftxio04.pdf>
2. Circulaire DGS No. 14 du 7 mars 1994 relative au cadre d'utilisation de la méthadone dans la prise en charge des toxicomanes.

3. Circulaire DGS/DHOS No. 2002/57 du 30 janvier 2002 relative à la prescription de la méthadone par les médecins exerçant en établissement de santé, dans le cadre de l'initialisation d'un traitement de substitution pour les toxicomanes dépendants majeurs aux opiacés.
<http://mildt.systaliu.org/article672.html>
4. Varescon I, Vidal-Trécan G, Nabet N, Boissonas A. Substitution et mésusage : l'injection intraveineuse de buprénorphine haut dosage. *L'Encéphale*. 2002; 28: 397-402.
5. Duverneuil C, Etting I, Paraire F, Lorin de la Grandmaison G, Durigon M, de Mazancourt P, Alvarez JC. Intérêt des analyses toxicologiques lors d'une recherche des causes de décès (résultats de 358 analyses). *Ann Toxicol Anal*. 2005; 17(3): 187-193.
6. Kristensen K, Christensen CB, Christrup LL. The μ_1 , μ_2 , δ , κ opioid receptor binding profiles of methadone stereoisomers and morphine. *Life Sci*. 1995; 56: 45-50.
7. Vazquez V, Gury C, Laqueille X. Methadone: from pharmacokinetic profile to clinical pharmacology. *Encephale*. 2006; 32: 478-486.
8. Levran O, O'Hara K, Peles E, Li D, Barral S, Ray B, Borg L, Ott J, Adelson M, Kreek MJ. ABCB1 (MDR1) genetic variants are associated with methadone doses required for effective treatment of heroin dependence. *Hum Mol Genet*. 2008; 17(14): 2219-2227.
9. Foster DJ, Somogyi AA, Dyer KR, White JM, Bochner F. Steady-state pharmacokinetics of (R)- and (S)-methadone in methadone maintenance patients. *Br J Clin Pharmacol*. 2000; 50(5): 427-440.
10. Boglione-Kerrien C, Furet Y, Bachellier J, Paintaud G, Autret-Leca E. Methadone blood assay by the FPIA technique: application to the monitoring of patients in maintenance treatment to opiates. *Ann Biol Clin*. 2007; 65(1): 51-57.
11. Cone EJ, Caplan YH, Black DL, Robert T, Moser F. Urine drug testing of chronic pain patients: licit and illicit drug patterns. *J Anal Toxicol*. 2008; 32(8): 530-543.
12. Bézie Y, Talon V, Lillo A, Illier C, Billaud E, Prognon P, Boutouyrie P. Compliance with methadone-based substitutive treatment: a proposed model based on immunoassay urinary sample screening. *Ther Drug Monit*. 2004; 26(3): 271-276.
13. George S, Parmar S, Meadway C, Braithwaite RA. Application and validation of a urinary methadone metabolite (EDDP) immunoassay to monitor methadone compliance. *Ann Clin Biochem*. 2000; 37(3): 350-354.
14. Preston KL, Epstein DH, Davoudzadeh D, Huestis MA. Methadone and metabolite urine concentrations in patients maintained on methadone. *J Anal Toxicol*. 2003; 27(6): 332-341.
15. Kell MJ, Techman T. Rapid measurement of plasma methadone in a clinical setting using fluorescence polarization immunoassay. *J Addict Dis*. 1996; 15(2): 69-83.
16. Juhascik M, Habel S, Barron W, Behonick G. Validation of an ELISA method for screening methadone in postmortem blood. *J Anal Toxicol*. 2006; 30(8): 617-620.
17. Chikhi-Chorfi N, Galons H, Pham-Huy C, Thevenin M, Warnet JM, Claude JR. Selective antibodies to methadone enantiomers: synthesis of (R)- and (R,S)-methadone conjugates and determination by an immunoenzymatic method in human serum. *Chirality*. 2001; 13(4): 187-192.
18. Cone EJ, Clarke J, Tsanaclis L. Prevalence and disposition of drugs of abuse and opioid treatment drugs in oral fluid. *J Anal Toxicol*. 2007; 31(8): 424-433.
19. Moore L, Wicks J, Spiehler V, Holgate R. Gas chromatography-mass spectrometry confirmation of Cozart RapiScan saliva methadone and opiates tests. *J Anal Toxicol*. 2001; 25(7): 520-524.
20. Cooper G, Wilson L, Reid C, Baldwin D, Hand C, Spiehler V. Comparison of GC-MS and EIA results for the analysis of methadone in oral fluid. *J Forensic Sci*. 2005; 50(4): 928-932.
21. Cooper G, Wilson L, Reid C, Baldwin D, Hand C, Spiehler V. Comparison of Cozart microplate ELISA and GC-MS detection of methadone and metabolites in human hair. *J Anal Toxicol*. 2005; 29: 678-681.
22. elSohly MA, Feng S, Murphy TP. Analysis of methadone and its metabolites in meconium by enzyme immunoassay (EMIT) and GC-MS. *J Anal Toxicol*. 2001; 25(1): 40-44.
23. Widschwendter CG, Zernig G, Hofer A. Quetiapine cross reactivity with urine methadone immunoassays. *Am J Psychiatry*. 2007; 164(1): 172.
24. Lichtenwalner MR, Mencken T, Tully R, Petosa M. False-positive immunochemical screen for methadone attributable to metabolites of verapamil. *Clin Chem*. 1998; 44(5): 1039-1041.
25. Lancelin F, Kraoul L, Flatischler N, Brovedani-Rousset S, Piketty ML. False-positive results in the detection of methadone in urines of patients treated with psychotropic substances. *Clin Chem*. 2005; 51(11): 2176-2177.
26. Kelner MJ. Positive diphenhydramine interference in the EMIT-d.a.u. assay. *Clin Chem*. 1984; 30(8): 1430.
27. Hausmann E, Kohl B, von Boehmer H, Wellhöner HH. False-positive EMIT indication of opiates and methadone in a doxylamine intoxication. *J Clin Chem Clin Biochem*. 1983; 21(10): 599-600.
28. Al-Asmari AI, Anderson RA. Comparison of nonhydrolysis and hydrolysis methods for the determination of buprenorphine metabolites in urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Anal Toxicol*. 2008; 39(9): 744-753.
29. Cirimele V, Etienne S, Villain M, Ludes B, Kintz P. Evaluation of the One-Step ELISA kit for the detection of buprenorphine in urine, blood, and hair specimens. *Forensic Sci Int*. 2004; 143(2-3): 153-156.
30. Cirimele V, Kintz P, Lohner S, Ludes B. Enzyme immunoassay validation for the detection of buprenorphine in urine. *J Anal Toxicol*. 2003; 27(2): 103-105.
31. Miller EI, Torrance HJ, Oliver JS. Validation of the Immunalysis microplate ELISA for the detection of buprenorphine and its metabolite norbuprenorphine in urine. *J Anal Toxicol*. 2006; 30(2): 115-119.
32. Wang G, Vincent M, Rodrigues W, Agrawal A, Moore C, Barhate R, Abolencia E, Coulter C, Soares J, Zheng YF, Taylor C, Morjana N. Development and GC-MS validation of a highly sensitive recombinant G6PDH-based homogeneous immunoassay for the detection of buprenorphine and norbuprenorphine in urine. *J Anal Toxicol*. 2007; 31(7): 377-382.
33. Hull MJ, Bierer MF, Griggs DA, Long WH, Nixon AL, Flood JG. Urinary buprenorphine concentrations in patients treated with suboxone as determined by liquid chromatography-mass spectrometry and CEDIA immunoassay. *J Anal Toxicol*. 2008; 32(7): 516-521.
34. Böttcher M, Beck O. Evaluation of buprenorphine CEDIA assay versus GC-MS and ELISA using urine samples from patients in substitution treatment. *J Anal Toxicol*. 2005; 29(8): 769-776.
35. Wilkins DG, Rollins DE, Valdez AS, Mizuno A, Krueger GG, Cone EJ. A retrospective study of buprenorphine and norbuprenorphine in human hair after multiple doses. *J Anal Toxicol*. 1999; 23(6): 409-415.

36. Goodwin RS, Wilkins DG, Averin O, Choo RE, Schroeder JR, Jasinski DR, Johnson RE, Jones HE, Huestis MA. Buprenorphine and norbuprenorphine in hair of pregnant women and their infants after controlled buprenorphine administration. *Clin Chem.* 2007; 53(12): 2136-2143.
37. McNally AJ, Pilcher I, Wu R, Salamone SJ, Brewington S, King JW, Irving J. Evaluation of the online immunoassay for propoxyphene: comparison to EMIT II and GC-MS. *J Anal Toxicol.* 1996; 20(7): 537-540.
38. Kintz P, Mangin P. Abbott propoxyphene assay: evaluation and comparison of TDx FPIA and GC/MS methods. *J Anal Toxicol.* 1993; 17(4): 222-224.
39. Poklis A, Poklis JL, Tarnai LD, Backer RC. Evaluation of the Triage PPY on-site testing device for the detection of dextro-propoxyphene in urine. *J Anal Toxicol.* 2004; 28(6): 485-8.
40. Moore C, Marinetti L, Coulter C, Crompton K. Analysis of pain management drugs, specifically fentanyl, in hair: application to forensic specimens. *Forensic Sci Int.* 2008; 176(1): 47-50.
41. Ruangyuttikarn W, Law MY, Rollins DE, Moody DE. Detection of fentanyl and its analogs by enzyme-linked immunosorbent assay. *J Anal Toxicol.* 1990; 14(3): 160-164.
42. Smith ML, Hughes RO, Levine B, Dickerson S, Darwin WD, Cone EJ. Forensic drug testing for opiates. VI. Urine testing for hydromorphone, hydrocodone, oxycodone, and oxycodone with commercial opiate immunoassays and gas chromatography-mass spectrometry. *J Anal Toxicol.* 1995; 19(1): 18-26.
43. Backer RC, Monforte JR, Poklis A. Evaluation of the DRI oxycodone immunoassay for the detection of oxycodone in urine. *J Anal Toxicol.* 2005; 29(7): 675-677.
44. Haller CA, Stone J, Burke V, Branch J, Chen K, Gross S. Comparison of an automated and point-of-care immunoassay to GC-MS for urine oxycodone testing in the clinical laboratory. *J Anal Toxicol.* 2006; 30(2): 106-111.