

Étude de cas

Cas clinique : suivi d'une intoxication volontaire au Printazol par LC-MS/MS

Case report: self-poisoning by Printazole monitored by LC-MS/MS

Sylvie Lepage¹, Arnaud Gacouin², Alain Baert³, Alain Feuillu¹, Yves Le Tulzo², Isabelle Morel^{1*}

¹ Laboratoire des urgences-réanimations et de toxicologie, CHU Pontchaillou, rue Henri le Guillou, 35033 Rennes, France

² Service de réanimation médicale, CHU Pontchaillou, 35033 Rennes, France

³ Centre Antipoison, CHU Pontchaillou, 35033 Rennes, France

Résumé – Objectifs : Un homme de 49 ans a été admis en réanimation après ingestion d'une quantité inconnue d'une solution de Printazol N, mélange de chlorophénoxy-herbicides, composé des sels d'amine du 2,4-D (acide 2,4-dichlorophénoxyacétique), du MCPA (acide 2-méthyl-4-chlorophénoxyacétique) et du piclorame. L'objectif de ce travail est de présenter le suivi de cette intoxication au travers des paramètres clinico-biologiques et du dosage des herbicides mis en cause. **Méthode :** La prise en charge de l'intoxication et le traitement du patient ont consisté en la mise en place d'une diurèse alcaline et de plusieurs hémodialyses. Le suivi analytique des concentrations sanguines et urinaires en herbicides a été effectué pendant les 7 premiers jours d'hospitalisation au moyen d'une technique LC-MS-MS. **Résultats et conclusions :** La méthode de dosage des herbicides par LC-MS-MS s'est révélée rapide, avec un temps d'analyse de l'ordre de 20 minutes, et sensible (LOD < 0,1 mg/L pour chacun des analytes). Ceci a permis d'adapter le traitement du patient, contribuant à l'évolution favorable de son état clinique et à son orientation vers une autre unité de soins.

Mots clés : Printazol, chlorophénoxy-herbicide, intoxication aiguë, LC-MS/MS

Abstract – Objective: A 49-years old man was admitted to intensive care unit after ingestion of an undetermined volume of Printazol solution, actually a mixture of chlorophenoxyacid herbicides composed of 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid), MCPA (2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid) and picloram. The purpose of this study is to consider the evolution of the intoxication, in terms of clinical and biological parameters, and quantification of the herbicides. **Methods:** The intoxication was treated using alkaline diuresis and iterated hemodialysis. Blood and urinary levels of herbicides were monitored during 7 days by means of LC-MS-MS analysis. **Results and conclusions:** LC-MS-MS analysis proved fast (performing time: 20 minutes) and sensitive (LOD < 0.1 mg/L for every analyte). This method permitted to fine-tune the treatment, and contributed to the positive evolution of the clinical state of the patient and his transfer to another hospital unit.

Key words: Printazol, chlorophenoxy-herbicide, acute poisoning, LC-MS/MS

Reçu le 10 septembre 2009, accepté après modifications le 7 décembre 2009
Publication en ligne le 27 janvier 2010

1 Introduction

L'emploi d'herbicides aryloxyacides est largement répandu depuis les années 50 [1] en Europe, aux États-Unis et en Asie en tant que dés herbants systémiques, du fait de l'analogie de leur structure avec les phytohormones auxiniques [2]. D'un

point de vue structural, les produits de type chlorophénoxy-herbicides, sont constitués d'une chaîne aliphatique carboxylique reliée par une liaison éther à un noyau aromatique portant plusieurs atomes de chlore; c'est le cas du 2,4-D (acide 2,4-dichlorophénoxyacétique) et du MCPA (acide 2-méthyl-4-chlorophénoxyacétique). Dans cette même classe d'herbicides, il existe des variations structurales comme pour le piclorame qui présente une liaison directe de la fonction carboxylique sur un hétérocycle aromatique. Plusieurs produits

* Correspondance :

Isabelle Morel, Tél. 02 99 28 43 00, Fax 02 99 28 42 73,
isabelle.morel@chu-rennes.fr

sont commercialisés en France sous forme d'acide libre, d'ester ou de sel, et le plus souvent en association de manière à en élargir le spectre d'action. Le Printazol N est une spécialité contenant un mélange de 2 chlorophénoxy-herbicides sous forme de sels d'ammine : le 2,4-D (330 g/L) et le MCPA (285 g/L) associés au piclorame (15 g/L).

Les intoxications accidentelles avec ces herbicides sont peu fréquentes par comparaison au paraquat [3]. En revanche, ces herbicides sont reportés pour être utilisés dans les gestes suicidaires où les symptômes peuvent se révéler graves voire même létaux [4, 5].

Nous rapportons le cas d'un homme de 49 ans, alcoolique chronique, ayant volontairement ingéré une quantité inconnue de Printazol N. L'évolution de son état clinique et des teneurs en herbicides acides dans les liquides biologiques sont décrites en relation avec la prise en charge médicale du patient.

2 Description du cas

Cet homme de 49 ans, éthylique chronique, avec un antécédent d'intoxication volontaire par ingestion d'hypochlorite de sodium, est hospitalisé après sa découverte à son domicile avec un trouble de la conscience et une perte d'urine.

À son admission le score de Glasgow est à chiffré à 8, la pression artérielle à 100/82 mmHg, la fréquence cardiaque à 120/min, la SpO₂ à 100 % en ventilation spontanée, sans signes de choc.

L'ECG montre un rythme sinusal sans troubles de la repolarisation. La kaliémie est à 4,7 mmol/L, le reste du bilan biologique montre une acidose métabolique (pH = 7,22, CO₂T = 25 mmol/L), l'absence d'insuffisance rénale et une recherche négative en antidépresseurs tricycliques.

Le patient est intubé puis transféré dans le service de réanimation médicale du CHU de Rennes où l'on constate à l'admission un état de choc cardiogénique contemporain d'une bradycardie à complexes larges alternant avec des passages de tachycardie supraventriculaire. La kaliémie est alors à 7,8 mmol/L (contrôlée à 8 mmol/L une demi-heure plus tard). La créatinémie est à 207 micromol/L, la diurèse conservée et il n'y a pas de rhabdomyolyse (CPK à 207 UI/L). Après alcalinisation par solution de bicarbonate à 42 /^{°°}, injection de deux ampoules (10 mL) de gluconate de calcium, injection d'insuline et de glucose, les anomalies ECG régressent très rapidement, la kaliémie est alors dosée à 4,2 mmol/L moins d'une heure après le début de la prise en charge. Dès lors l'état hémodynamique restera stable, la fonction ventriculaire gauche est normale lors de l'échocardiographie. La fibroscopie oesogastrique réalisée le lendemain de l'admission montre des lésions érosives et saignantes du fundus mais sans nécrose.

Le patient sortira du service de réanimation guéri et sans insuffisance rénale après huit jours de prise en charge et cinq séances d'hémodialyse.

Dès la prise en charge hospitalière du patient, la détermination des concentrations sanguines et urinaires en herbicides est réalisée et poursuivie pendant les sept premiers jours d'hospitalisation. L'évolution favorable de l'état clinique permet une extubation à J8 et, en l'absence de séquelles graves, la sortie du patient est autorisée à J11.

3 Matériel et méthodes

À l'arrivée du patient dans le service de réanimation, les analyses toxicologiques se sont orientées vers un dosage spécifique des molécules contenues dans la spécialité herbicide Printazol N au moyen d'une technique de chromatographie liquide couplée par une interface electrospray à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS-MS) (Quantum Discovery plus, Thermofisher, France). Cette technique permet un dosage rapide, sensible et spécifique de ces composés dans les échantillons biologiques [6–8]. Ainsi, les échantillons urinaires et sanguins (20 µL) collectés au cours de l'hospitalisation sont déprotéinisés par 50 µL d'une solution d'acétonitrile contenant un étalon interne deutéré (Diazepam-d5 1 mg/mL). Après centrifugation, 10 µL d'échantillon dilué sont élués sur une colonne C18 (100 × 2,1 mm, 3 µm, Hypersil Gold, Thermofisher) par 0,2 mL/min d'un mélange acide formique 0,1 %/ acétonitrile (90/10 v/v). Les 3 analytes contenus dans la spécialité Printazol N (piclorame, MCPA et 2,4-D) sont quantifiés en mode MRM, à des temps de rétentions respectivement de 7,75 minutes pour le piclorame et de 13,5 minutes pour le MCPA et le 2,4-D. Les transitions de quantification sont de 240,8/194,9 (énergie de collision 27V) pour le piclorame, de 198,9/141,0 (énergie de collision 15V) pour le MCPA et de 220,8/163,0 (énergie de collision 15V) pour le 2,4-D. La quantification de ces substances est réalisée au moyen de gammes d'étalonnage réalisées par surcharge d'une matrice sanguine ou urinaire vierge avec des dilutions de solutions standard constituées à partir de substances de référence (2,4-D fourni par Supelco ; MCPA et piclorame fournis par Sigma-Aldrich-Fluka). Les paramètres de linéarité des courbes de calibration (concentrations allant jusqu'à 750 mg/L) présentent des coefficients de régression linéaire supérieurs à 0,9987 pour les trois analytes dans les matrices urinaires ou sanguines. La vérification de l'absence de suppression d'ions a été effectuée. Les limites de détection (LOD) ont été déterminées en considérant un rapport signal/bruit de 3/1 et correspondent, dans la matrice sanguine ou urinaire, à 0,1 mg/L pour le piclorame, 0,045 mg/L pour le MCPA et 0,025 mg/L pour le 2,4-D. Bien que la limite de quantification corresponde à 3,3 fois la limite de détection, et sachant que les concentrations dans les cas d'intoxication sont largement supérieures aux limites de quantification établies dans le cadre d'expositions environnementales [6], la valeur de 2 mg/L a été retenue comme étant le premier point des gammes d'étalonnage.

4 Résultats et discussion

Les trois pesticides constituant le Printazol N, le 2,4-D, le MCPA et le piclorame ont été dosés dans le sang à des concentrations respectivement de 276,9, 291,4 et 11,9 mg/L au début de l'hospitalisation (figure 1). Ces concentrations sanguines initialement déterminées à l'admission du patient correspondent à des teneurs mentionnées dans la littérature comme étant potentiellement toxiques (*poison severity score* PPS1). De plus, la concentration totale en ces pesticides (580 mg/L) excède la valeur plasmatique de 500 mg/L reportée comme étant un critère de gravité de l'intoxication par ces composés [9, 10].

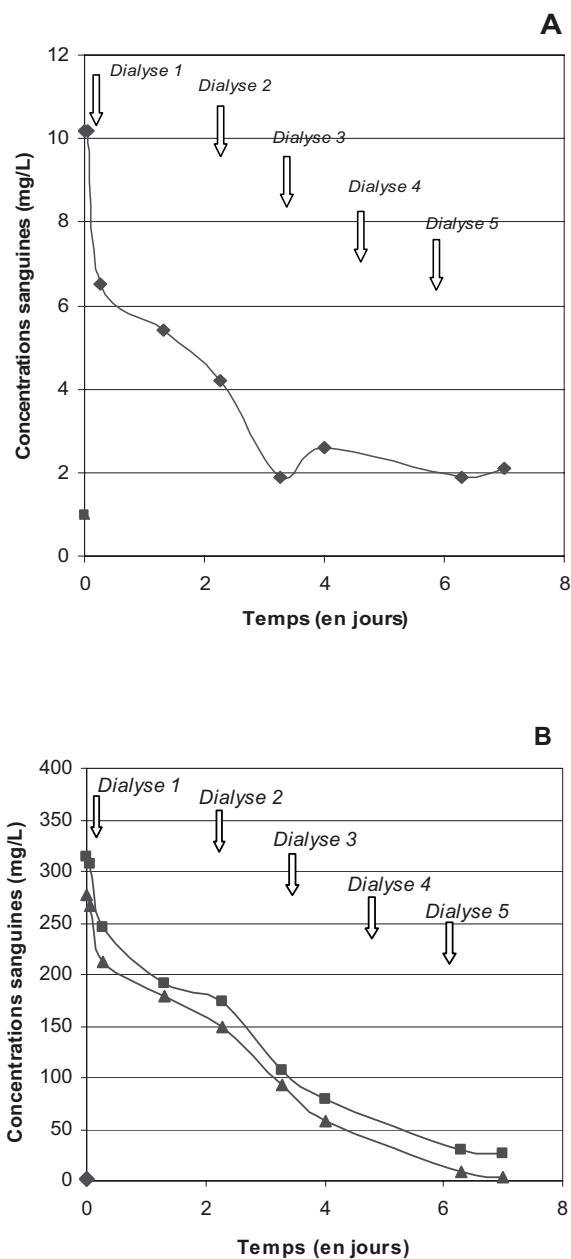


Fig. 1. Évolution en fonction du temps (en jours) des concentrations sanguines (mg/L) en (A) piclorame (◆) et en (B) MCPA (■) et 2,4-D (▲). Les flèches correspondent à chacune des hémodialyses.

Les chlorophénoxy-herbicides sont bien absorbés par voie digestive et se lient fortement aux protéines plasmatiques. Ils sont rapidement éliminés dans les urines principalement sous forme inchangée (90 %) par transport actif au niveau des tubules rénaux proximaux [6, 11]. Les concentrations urinaires mesurées illustrent cette élimination rénale sous forme inchangée (figure 2).

Une décroissance progressive au cours du temps d'hospitalisation est observée, notamment pour le piclorame qui atteint des valeurs faibles de l'ordre de 2 mg/L dans le sang et de 3 mg/g de créatinine dans les urines au cours des derniers jours d'hospitalisation.

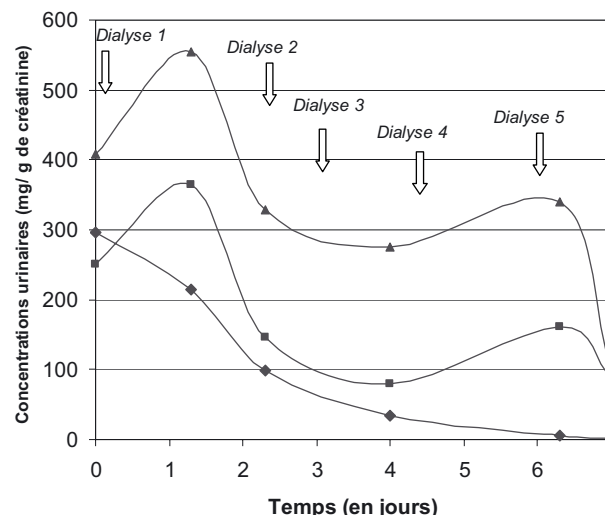


Fig. 2. Évolution en fonction du temps (en jours) des concentrations urinaires (mg/g de créatinine) en (◆) piclorame, (■) MCPA, (▲) 2,4-D. Les flèches correspondent à chacune des hémodialyses.

L'évolution des taux sanguins et urinaires des deux autres substances, le MCPA et le 2,4-D, est moins marquée avec des valeurs de l'ordre de 90 mg/g de créatinine dans les urines pour les derniers dosages effectués. Les teneurs sanguines diminuent plus rapidement pour le MCPA que pour le 2,4-D.

Cette décroissance progressive des teneurs sanguines et urinaires observée au cours de l'hospitalisation traduit l'élimination induite par la diurèse alcaline et 5 séances d'hémodialyses (figures 1 et 2).

Chez des volontaires sains, une étude cinétique de l'élimination du 2,4-D et du MCPA rapporte une demi-vie de l'ordre de 12 h pour ces deux substances [11], lorsque la dose administrée est faible. En revanche, d'autres études rapportent, pour le MCPA, une demi-vie plasmatique de l'ordre de 133 h [2] et de 80–120 h [10] en cas d'intoxication par de fortes doses. Il apparaît cependant que ces demi-vies plasmatiques sont considérablement diminuées par l'alcalinisation des urines [2, 12] et la réalisation de séances d'hémodialyse [9].

Le mode d'action toxique de ces substances est imparfaitement connu [3]. Mais un des mécanismes d'action repose sur des lésions doses dépendantes des membranes cellulaires avec altération de la barrière hémato-méningée et perturbation des transferts ioniques transmembranaires. Ces modifications au niveau des neurones expliquent la toxicité neurologique. En outre, il a été mis en évidence chez le rat des altérations des récepteurs à la dopamine D2.

L'acide 2,4-D est capable expérimentalement d'interférer avec les voies métaboliques impliquant l'acétyl-coenzyme A, de former des esters de la choline qui agiraient comme de faux neurotransmetteurs (au niveau des récepteurs nicotiniques et muscariniques). Les lésions cellulaires induites semblent s'accompagner d'un découplage de la phosphorylation oxydative [3].

La combinaison de la diurèse alcaline et des hémodialyses successives ont contribué à l'élimination des toxiques et à l'amélioration clinique du patient [3].

La littérature souligne cependant l'absence de bonne corrélation entre les teneurs plasmatiques en chlorophénoxy-herbicides et la sévérité de l'intoxication [9, 13]. Il apparaît toutefois que l'évaluation des concentrations plasmatiques en ces substances présente un intérêt dans le suivi de l'adaptation du traitement alcalinisant et dans la programmation des séances d'hémodialyse.

5 Conclusion

En cas d'intoxication aiguë, les dosages sanguins et urinaires par LC-MS-MS des herbicides acides contenus dans le Printazol N sont facilement réalisables. Ils permettent de suivre de manière sensible et rapide les teneurs en herbicides, pour optimiser la prise en charge du patient.

Conflit d'intérêt. Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt.

Références

1. Anger JP, Kintz P. Difficultés analytiques de la caractérisation des pesticides dans le sang. *Ann Toxicol Anal.* 2009; 21(3): 131–141.
2. Schmoltdt A, Iwersen S, Schlüter W. Massive ingestion of the herbicide 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid (MCPA). *Clin Toxicol.* 1997; 35(4): 405–408.
3. Bradberry SM, Watt BE, Proudfoot AT, Vale JA. Mechanism of toxicity, clinical features and management of acute chlorophenoxy herbicide poisoning: a review. *Clin Toxicol.* 2000; 38(2): 111–122.
4. Nisse P, Cezard C, Peucelle D, Durocher A, Mathieu-Nolf M. Ingestion mortelle d'une solution concentrée de 2,4-D et de MCPA. *Acta Clin Belg Suppl.* 2006; 61: 68–70.
5. Takayasu T, Hayashi T, Ishida Y, Nosaka M, Mizunuma S, Miyashita T, Kawaguchi M, Kimura A, Kondo T. A fatal intoxication from ingestion of 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid (MCPA). *J Anal Toxicol.* 2008; 32(2): 187–191.
6. Lindh CH, Littorin M, Amilon A, Jönsson BAG. Analysis of phenoxyacetic acid herbicides as biomarkers in human urine using liquid chromatography/triple quadrupole mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2008; 22: 143–150.
7. Marchese S, Perret D, Gentili A, D'Ascenzo G, Faberi A. Determination of phenoxyacid herbicides and their phenolic metabolites in surface and drinking water. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2002; 16: 134–141.
8. Charlton AJA, Stuckey V, Sykes MD. Determination of the phenoxyacid herbicides MCPA, Mecoprop and 2,4-D in kidney tissue using liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2009; 82: 711–771.
9. Turcant A, Ganiere-monteil C, Le Bouil A, Gamelin L, Harry P. Les herbicides halogénés de type phénoxyacides: évaluation clinico-biologique des intoxications recensées au centre antipoison d'Angers entre 1992 et 2005. *Ann Toxicol Anal.* 2006; 18(2): 127–133.
10. Flanagan RJ, Meredith TJ, Ruprah M, Onyon LJ, Liddle A. Alkaline diuresis for acute poisoning with chlorophenoxy herbicides and ioxynil. *Lancet.* 1990; 335: 454–458.
11. Timchalk C. Comparative inter-species pharmacokinetics of phenoxyacetic acid herbicides and related organic acids. Evidence that the dog is not relevant species for evaluation of human health risk. *Toxicology.* 2004; 200: 1–19.
12. Roberts DM, Buckley NA. Urinary alkalinisation for acute chlorophenoxy herbicide poisoning. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007; 24(1): CD005488.
13. Roberts DM, Seneviratne R, Mohammed F, Patel R, Senarathna L, Hittarage A, Buckley NA, Dawson AH, Eddleston M. Intentional self-poisoning with the chlorophenoxy herbicide 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid (MCPA). *Ann Emerg Med.* 2005; 46: 275–284.