

L'addiction en milieu professionnel : quelles techniques de confirmation après l'immunoanalyse ?

Workplace drug testing : which technique to use after immunoassay ?

Jean-Pierre GOULLÉ*, Christian LACROIX

Laboratoire de Pharmacocinétique et de Toxicologie Cliniques, Groupe Hospitalier - BP 24 - 76083 LE HAVRE CEDEX

* Auteur à qui adresser la correspondance : Jean-Pierre GOULLÉ, Laboratoire de Pharmacocinétique et de Toxicologie Cliniques, Centre Hospitalier Jacques Monod - BP 24 - 76083 LE HAVRE CEDEX
Tél : 02 32 73 32 23 - Fax : 02 32 73 32 38 - e-mail : jgoulle@ch-havre.fr

(Reçu le 1^{er} février 2002 ; accepté le 15 février 2002)

RÉSUMÉ

Les analyses de confirmation concernant les conduites addictives en milieu professionnel sont pratiquées, soit en seconde intention après dépistage urinaire par immunoanalyse, ou d'emblée lorsqu'il n'existe pas d'immunoessai. Pour les principales familles de stupéfiants (cannabis, opiacés, cocaïne, amphétamines), en cas de positivité lors du dépistage par immunoanalyse, la ou les substances dont la présence est suspectée lors de l'immunoessai doivent être formellement identifiées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Cette analyse permet d'établir un profil d'exposition, et le plus souvent de conclure, soit à une conduite toxicophile, soit à une prise thérapeutique, soit à une interférence lors de l'immunoanalyse. Les méthodes dites de confirmation peuvent également être mises en œuvre lorsque l'immunoanalyse est négative en raison d'une sensibilité insuffisante comme c'est le cas par exemple avec certaines benzodiazépines. Pour ces recherches, chromatographie en phase liquide couplée à une détection par barrette de diodes et chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse sont les techniques de choix. Enfin, en l'absence d'immunoessai disponible, la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse permet de mettre en évidence un certain nombre de molécules parmi lesquelles on trouve des médicaments, ou des produits dopants comme les stéroïdes anabolisants. Enfin la chromatographie en phase liquide couplée à une détection par barrette de diodes peut-être mise en œuvre pour d'autres médicaments appartenant à la classe des substances psychoactives.

MOTS-CLÉS

Urines, stupéfiants, substances psychoactives, méthodes chromatographiques.

SUMMARY

Professional workplace addiction testing is performed either to validate urine positive screening immunoassay or directly in the absence of immunoassay. As regards the main drugs of abuse (cannabis, opiates, cocaine, amphetamines) positive results must be confirmed by gas chromatography mass spectrometry. Exposure, an addiction, or a therapeutic pattern, in most cases, may then be concluded. Confirmation techniques have also to be carried out, when immunoassay is not sensitive enough, ie. for some benzodiazepines. For these exposures, liquid chromatography coupled to a diode array detector or to a mass detector, are the optimal techniques. However, when immunoassay is not available, gas chromatography coupled to mass spectrometry is useful for many substances, as doping agent like anabolic steroids. Liquid chromatography coupled to diode array detector is also the method of choice for most psychoactive drugs.

KEY-WORDS

Urine, drugs of abuse, psychoactive drugs, chromatographic methods.

Introduction

La recherche d'une conduite addictive en milieu professionnel pose un certain nombre de problèmes. Parmi ceux-ci, doivent être pris en compte l'acceptabilité par le personnel objet de ces examens, le caractère non invasif des prélèvements, la nécessité de pouvoir les réaliser à grande échelle, le coût des analyses. L'ensemble de ces contraintes impose, dans un premier temps au moins, le recours à des recueils urinaires. L'analyse des urines est effectuée par immunoanalyse pour un nombre limité de molécules, le plus souvent sur automate. En cas de positivité lors du dépistage par immunoanalyse, la confirmation doit être obligatoirement pratiquée par une technique séparative. Pour de nombreuses substances, il n'existe pas d'immunoessai, aussi des méthodes spécifiques doivent être mises en œuvre. Nous envisagerons successivement les techniques de confirmation des stupéfiants urinaires, les techniques d'analyse et de confirmation des substances psychoactives, puis l'analyse des stéroïdes anabolisants.

Techniques de confirmation des stupéfiants dans les urines

Pour les principales familles de stupéfiants (cannabis, opiacés, cocaïne, amphétamines), en cas de positivité lors du dépistage par immunoanalyse, la ou les substances dont la présence est suspectée lors de l'immunoanalyse, doivent être formellement identifiées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM). Cette analyse permet d'établir un profil d'exposition, et le plus souvent de conclure soit à une conduite toxicophile, soit à une prise thérapeutique, soit à une interférence lors de l'immunoanalyse

Cannabis

La consommation de cannabis s'accompagne d'une élimination urinaire brève d'alcoïdes et constituants variés (cannabinol, cannabidiol, tétrahydrocannabinol, divers autres dérivés du cannabis). Ceux-ci peuvent être mis en évidence pendant une courte période sur un simple extrait des urines analysé par CG/SM. En pratique, l'usage de cannabis est habituellement affirmé par la mise en évidence du dérivé carboxylique qui peut être retrouvé pendant une période beaucoup plus longue, de l'ordre de 10 jours. La technique de confirmation comporte une hydrolyse alcaline des urines pour libérer la partie du nor-11-delta-9THC-carboxylique (Δ^9 -THC-COOH) éliminée sous forme glucuro-

noconjuguée. Une extraction par solvant ou en phase solide est réalisée sur l'acide carboxylique, puis une dérivation par bis-triméthylsilyl-trifluoroacétamide (BSTFA) en présence de triméthylchlorosilane (TMCS) pour rendre l'acide carboxylique volatil. Le dérivé obtenu est alors formellement identifié par son spectre de masse. L'emploi d'étalon deutéré permet de réaliser la quantification. Cette technique ne pose pas de problème particulier. Le volume d'échantillon utilisé pour la confirmation quantitative est fonction de la valeur semi-quantitative lors de l'immunoessai. Les seuils de positivité recommandés sont ceux de la Substance Abuse and Mental Health Services Administration (SAMSHA) en date du 5 décembre 2000, le seuil de positivité proposé est de 50 ng/ml de Δ^9 -THC-COOH lors du dépistage urinaire par immunoanalyse, le seuil retenu pour la confirmation par CG/SM est de 15 ng/ml de Δ^9 -THC-COOH.

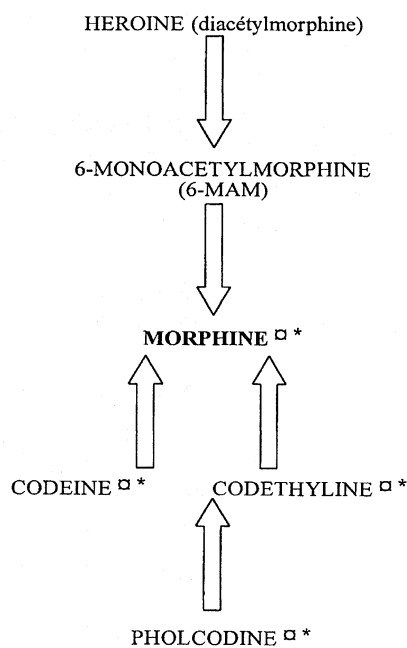
Opiacés

Cette appellation recouvre une grande variété de substances soit d'origine naturelle (morphine, codéine, papavérine) soit d'origine hémi-synthétique (éthylmorphine, pholcodine, dextrométhorphane, héroïne), soit d'origine synthétique (buprénorphine).

Opiacés d'origine naturelle ou hémi-synthétiques

La présence d'une réaction positive aux opiacés dans les urines lors de l'immunoanalyse impose une confirmation qui est réalisée par CG/SM. Pour la buprénorphine et la méthadone qui ne sont pas reconnues lors de l'immunoessai «opiacés», des techniques spécifiques doivent être mises en œuvre tant pour le dépistage que pour la confirmation. Si l'analyse des opiacés dans les urines par CG/SM après une simple extraction solvant permet d'identifier facilement les fractions libres, lors d'un dépistage large, cette technique ne doit pas être utilisée pour confirmer un immunoessai positif. En effet, les opiacés sont éliminés dans les urines sous forme libre et conjuguée, il convient de procéder à leur hydrolyse avant analyse. De nombreuses techniques d'hydrolyse ont été proposées en faisant appel soit à la glucuronidase, soit à l'acide chlorhydrique. L'hydrolyse chlorhydrique contrairement à l'hydrolyse enzymatique offre un meilleur rendement (1). Ces résultats sont confirmés par les résultats du contrôle de qualité organisé par la Société Française de Toxicologie Analytique (SFTA) (2). La technique de dosage des différents dérivés est celle recommandée par la SFTA pour le sang, elle est applicable aux urines (3). Il s'agit d'une triple extraction en phase liquide (ou d'une extraction en phase solide) suivie d'une dérivation par bis-triméthylsilyl-trifluoroacétamide (BSTFA). Les spectres de masse constituent la source d'identification formelle. L'emploi d'étalons deu-

térés permet l'obtention de résultats quantitatifs. La limite de détection pour les différents dérivés est inférieure à 10 ng/ml pour une prise d'essai de 1 ml. Le seuil de positivité proposé par la SAMSHA est de 200 ng/ml, exprimé en morphine lors du dépistage urinaire par immunoanalyse, le seuil retenu pour la confirmation par CG/SM est de 200 ng/ml pour la morphine et la codéine et de 10 ng/ml pour la 6-mono-acétyl-morphine (6-MAM). Pour interpréter les résultats, il convient de rappeler les principales voies de métabolisation des opiacés (figure 1). La mise en évidence d'une consommation d'héroïne passe obligatoirement par l'identification de 6-MAM dans les urines, condition nécessaire, mais suffisante pour affirmer une prise d'héroïne. Sa mise en évidence est rare, la 6-MAM n'étant retrouvée le plus souvent que dans la vessie qui suit la prise d'héroïne. En cas de prise de morphine, la morphine seule est détectée dans les urines, mais cela peut aussi correspondre à une prise d'héroïne ou d'un autre opiacé se métabolisant en morphine. En effet après prise de codéine ou de codéthylène si le recueil des urines est réalisé 4 heures après la prise, on retrouve beaucoup de codéine ou de codéthylène et un peu de morphine ; si le recueil des urines est effectué 36 heures après la prise on retrouve beaucoup de morphine et un peu ou pas de codéine ou de codéthylène (4, 5). Dans le cas d'une prise de pholcodine, on retrouve essentiellement de la pholcodine et très peu de morphine (6).



□ Glucuroconjugaison

* N-déméthylation

Figure 1 : Principales voies de métabolisation des opiacés.

Opioides de synthèse : buprénorphine et méthadone

La présence d'une réaction positive lors d'une immunoanalyse spécifique pour ces molécules impose une confirmation qui peut être réalisée par CG/SM ou par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse CL/SM. En ce qui concerne les techniques par CG/SM, deux modes opératoires peuvent être utilisés :

- soit celui préconisé par la SFTA (3) pour les opiacés d'origine naturelle ou d'origine héli-synthétique, et les cocaïniques. Malheureusement dans cette procédure seule la buprénorphine peut-être quantifiée, la nor-buprénorphine n'est pas mise en évidence, le dérivé silylé étant détruit dans l'injecteur. Le seuil de quantification est de 0,5 ng/ml,
- soit celui proposé par Vincent (7), qui permet de quantifier à la fois la buprénorphine et la nor-buprénorphine grâce à une dérivation beaucoup plus puissante associant méthyl-triméthyl-silyl-trifluoro-acétamide (MSTFA), triméthyl-chlorosilane (TMCS) et triméthyl-silyl-imidazole (TMSIM). La limite de détection pour les deux composés est de 0,1 ng/ml.

La CLHP/SM constitue cependant la technique de choix utilisée par la majorité des laboratoires qui en sont équipés. Outre le fait qu'il s'agit d'un dosage sans dérivation, la sensibilité est meilleure, avec une limite de quantification de 0,1 ng/ml (8).

La recherche de méthadone et/ou d'éthylidène-diméthyl-diphényl-pyrrolidine (EDDP) pouvant être réalisée à l'aide d'anticorps spécifiques, toute réaction positive par immunoanalyse doit être confirmée par CG/SM.

Cocaïne

Comme pour le cannabis ou les opiacés naturels ou héli-synthétiques, la cocaïne et ses métabolites (méthylecgonine, benzoylecgonine, anhydroecgonine, nor-cocaïne, ecgonine) ou le cocaéthylène qui se forme par action de l'éthanol sur la cocaïne, la mise en évidence peut être réalisée pendant une courte période sur un simple extrait des urines analysé par CG/SM. En pratique l'usage de cocaïne est habituellement affirmé par un dosage spécifique par CG/SM des différents dérivés éliminés dans les urines. La technique de dosage est celle recommandée par la SFTA dans le sang, il s'agit de la même technique que pour les opiacés, elle peut être appliquée aux urines (3). La limite de détection pour les dérivés cocaïniques est inférieure à 10 ng/ml pour une prise d'essai de 1 ml. Le seuil de positivité proposé par la SAMSHA est de 150 ng/ml exprimé en benzoylecgonine lors du dépistage urinaire par immunoanalyse, le seuil retenu pour la confirmation par CG/SM est de 100 ng/ml.

Amphétamines

La grande volatilité de nombreuses amphétamines rend le plus souvent illusoire toute mise en évidence dans les urines au cours du dépistage par CG/SM. La présence d'une réaction positive aux amphétamines lors de l'immunoanalyse impose une confirmation qui est réalisée par CG/SM. Il convient de signaler qu'en fonction de la nature des réactifs utilisés pour l'immunoessai, la proportion de fausses réactions positives est plus ou moins importante. C'est avec la recherche des amphétamines dans les urines que les fausses réactions positives sont les plus nombreuses par immunoanalyse pour les quatre principales familles de stupéfiants. Il s'agit notamment d'amines sympathomimétiques, d'anorexigènes, de médicaments : labétalol, ranitidine, cafédrine, tranlycypromine. Cette liste n'est pas exhaustive, de nombreux médicaments donnant des fragments phényl-éthyl-amine, qui peuvent être reconnus par certains anticorps lors de l'immunoessai, peuvent également conduire à de fausses réactions positives (10). Une technique recommandée pour la SFTA pour le sang a été publiée, elle est applicable aux urines (9). La limite de détection pour les dérivés amphétaminiques est inférieure à 10 ng/ml pour une prise d'essai de 1 ml. Le seuil de positivité proposé par la SAMSHA est de 500 ng/ml exprimé en d-méthamphétamine lors du dépistage urinaire par immunoanalyse, le seuil retenu pour la confirmation par CG/SM est de 250 ng/ml pour l'amphétamine, la métamphétamine, la méthylène-dioxy-méthyl-amphétamine (MDMA), la méthylène-dioxy-amphétamine (MDA), la méthylène-dioxy-éthyl-amphétamine (MDEA). En cas de positivité à la méthamphétamine, les urines doivent aussi contenir plus de 100 ng/ml de d-amphétamine.

Techniques d'analyse et de confirmation des substances psychoactives

Si l'immunoanalyse constitue pour les principales familles de stupéfiants la méthode choisie pour affirmer un résultat négatif, il n'existe pas d'immunoessai pour la plupart des substances psychoactives. Ce sont donc des techniques de dépistage large qui doivent être mises en œuvre.

Benzodiazépines (BZD)

L'immunoanalyse des benzodiazépines pose de nombreux problèmes d'interprétation en raison de deux problèmes majeurs :

- reconnaissance plus ou moins bonne des benzodiazépines et /ou des métabolites présents en fonction de la

nature des molécules et/ou du type des réactifs utilisés, - présence de dérivés conjugués dans les urines, dérivés qui sont encore moins bien reconnus que les fractions libres correspondantes.

Ces deux problèmes font que l'on peut avoir de nombreuses recherches faussement négatives. Deux techniques complémentaires doivent être mises en œuvre l'une après l'autre, si nécessaire, pour affirmer l'absence de benzodiazépine, l'immunoanalyse n'ayant qu'une valeur d'orientation.

- La chromatographie en phase liquide couplée à un détecteur par barrette de diodes (CLHP/BD) est la technique de première intention pour les dosages de BZD car celle-ci évite la dégradation thermique et une dérivatisation éventuelle inhérentes à la CG. Il s'agit aujourd'hui de conditions relativement bien standardisées et le détecteur par barrette de diodes permet de quantifier simultanément plusieurs BZD. Lorsque les concentrations sont très faibles cette technique n'est pas assez sensible. Les limites de détection (LD) sont comprises entre 2 et 30 ng/ml (11).

- La chromatographie en phase liquide couplée à un détecteur de masse (CLHP/SM) offre une meilleure sensibilité, elle permet de déceler la présence de BZD dont les concentrations circulantes sont faibles, accompagnées d'une élimination urinaire très réduite. Pour les triazolodiazépines (alpa-zolam, estazolam, triazolam) les LD sont de 0,2 ng/ml (12). En ce qui concerne le flunitrazépam et ses métabolites (desméthylflunitrazépam, 7-aminoflunitrazépam), les LD sont < 0,1 ng/ml (13).

Autres substances psychoactives

Si celles-ci sont nombreuses, la liste des médicaments rencontrés le plus souvent dans l'addiction en milieu professionnel est plus réduite. Elle est décrite par Eysseric et Coll dans ce numéro (14) et résumée tableau I. A de rares exceptions près, il n'existe pas d'immunoessai permettant leur mise en évidence. La plupart des substances peuvent être facilement mises en évidence par les techniques classiques de confirmation dans le cadre d'une analyse de dépistage large après extraction des urines : CG/SM, CLHP/BD. L'urine constitue le milieu de choix, en particulier pour la CG/SM, offrant pour la plupart des médicaments des seuils de détection très bas, ceci pour plusieurs raisons :

- l'absence d'effet de matrice biologique, l'urine ne contient pas de lipides comme le sang, elle est essentiellement constituée d'eau, d'éléments minéraux et de substances organiques -déchets de divers métabolismes- qui n'interfèrent pas avec la recherche des xénobiotiques. Cette caractéristique permet d'utiliser une prise d'essai plus importante que pour le plasma,

en règle générale 5 ml pour les urines contre 1 ml pour le plasma.

- Le recueil d'urines est facile et non invasif, l'analyse peut donc être réalisée avec une prise d'essai plus importante que dans le cadre d'une analyse sanguine.

- De nombreux xénobiotiques et métabolites sont éliminés dans les urines pendant une durée plus ou moins longue, fonction de leur demi-vie dans l'organisme. On considère généralement que l'analyse par CG/SM des urines constitue la photographie rétrospective du passé médicamenteux d'un individu des 24 à 48 dernières heures, variable en fonction de la nature des molécules ainsi que de la technique utilisée. En cas de conduite addictive la durée de mise en évidence peut être beaucoup plus longue. L'emploi de techniques plus sensibles (CG/SM/SM, CLHP/SM/SM) permet également d'augmenter la durée de la fenêtre de détection. En cas d'analyse positive, il conviendra de compléter l'examen urinaire par un dosage sanguin et une analyse de cheveux pour préciser le niveau d'exposition, leur durée, et mieux documenter l'observation médicale.

Tableau I : Liste des principaux médicaments psychoactifs rencontrés dans l'addiction professionnel, autres que les benzodiazépines, d'après (14).

SÉDATIFS	
-Anxiolytiques :	* benzodiazépines (BZD) * méprobamate
- Hypnotiques :	* BZD * zolpidem
- divers :	* barbituriques
OPIOIDES	
- Antalgiques opiacés faibles :	* codéine * dextropropoxyphène * tramadol
- Antalgiques opoïdes mixtes :	* buprénorphine * méthadone * pentazocine
- Antalgiques morphiniques :	* fentanyl * morphine
Psychostimulants :	* stéroïdes anabolisants * éphédrine * vasoconstricteurs
Antiparkinsoniens anticholinergiques	

Autres substances pouvant être à l'origine d'abus

La nandrolone ou 19-nortestostérone ainsi que ses esters donnent naissance à deux principaux métabolites éliminés dans les urines sous forme de dérivés glucuro-conjugués : la 19-norandrostérone (NA) et la 19-noréthiocholanolone (NE). Il n'existe pas d'immunoessai pour les mettre en évidence. La technique de dépistage par CG/SM décrite précédemment pour les substances psychoactives ne permet pas de les identifier. Il convient de mettre en œuvre un protocole spécifique comprenant : une extraction en phase solide en présence de NE-d₃ utilisée comme étalon interne, une hydrolyse enzymatique des conjugués, une purification par solvant puis silylation de l'extrait sec par méthyltriméthylsilyltrifluoroacétamide (MSTFA) (15). Le dosage est réalisé par CG/SM. Dans ces conditions la limite de quantification pour la NA et pour la NE est de 0,1 ng/ml. Dans une étude récente portant sur 160 échantillons réalisée par la SFTA, les concentrations physiologiques mesurées sont inférieures à 0,5 ng/ml (16). Tout résultat de NA supérieur à 2 ng/ml doit être considéré comme positif, il s'agit du seuil proposé par le Comité International Olympique.

Conclusion

L'urine constitue le milieu de choix pour rechercher une conduite addictive. Toute conduite addictive dépistée par immunoanalyse des urines doit être validée par une technique de confirmation chromatographique. En ce qui concerne les quatre principales familles de stupéfiants, amphétamines, cannabis, cocaïne, opiacés, il convient de rappeler que la recherche d'amphétamines par immunoessai conduit à un nombre de faux positifs non négligeable. La recherche d'opiacé par immunoanalyse ne permet pas de mettre en évidence ni la buprénorphine, ni la méthadone, leur recherche impose une prescription spécifique. Le nombre d'immunoessais disponibles sur le marché étant très limité, la recherche d'une conduite addictive doit être complétée par des techniques chromatographiques si besoin. Cette situation impose un dialogue permanent entre le médecin du travail et le toxicologue analyste pour un dépistage et un suivi optimums. Les examens urinaires pourront, en fonction du contexte, être complétés par des dosages sanguins et/ou l'analyse des cheveux, chaque milieu apportant des informations complémentaires. Au total, il s'agit d'une démarche globale qui doit également répondre à une meilleure approche épidémiologique de l'addiction en milieu professionnel.

Références

1. Romberg R.W., Lee L. Comparison of the hydrolysis rates of morphine-3-glucuronide and morphine-6-glucuronide with acid and β -glucuronidase. *J. Anal. Toxicol.* 1995 ; 19 : 157-61.
2. Deveaux M., de la Torre R., Ventura M., Segura J. Dosage de médicaments et stupéfiants dans les urines. Résultats des évaluations externes de la qualité pour l'hydrolyse des glucuroconjugés de la morphine et de la codéine (1996-1999) : rapport technique de la Commission Assurance de Qualité de la Société Française de Toxicologie Analytique, oct 2001.
3. Gaillard Y., Pépin G., Marquet P., Kintz P., Deveaux M., Mura P. Identification et dosage de la benzoylecgonine, cocaïne, méthylecgonine-ester, codéine, morphine et 6-acétylmorphine dans le sang total. *Toxicorama.* 1996 ; 8 (2) : 17-22.
4. Lafargue P., Benech H., Chaminade P., Chegaray E., Pierard C., Campion J.F., Henric-Resplandy M. Étude de l'élimination urinaire de la codéine et de la morphine après absorption orale de codéine. *Ann. Pharmaceutiques Françaises.* 1995 ; 53 : 66-74.
5. Cone E.J., Welch P., Paul B.D., Mitchell J.M. Forensic drug testing for opiates, III. Urinary excretion rates of morphine and codeine following codeine administration. *J. Anal. Toxicol.* 1991 ; 15 : 161-6.
6. Maurer H.H., Fritz C.F. Toxicological detection of pholcodine and its metabolites in urine and hair using radioimmunoassay, fluorescence polarisation immunoassay, enzyme immunoassay, and gas chromatography-mass spectrometry. *Int. J. Legal. Med.* 1990 ; 104 : 43-6.
7. Vincent F., Bessard J., Vacheron J., Mallaret M., Bessard G. Détermination de buprenorphine et norbuprenorphine in urine and hair by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Anal. Toxicol.* 1999 ; 23 : 270-9.
8. Hoja H., Marquet P., Verneuil B., Lofti H., Dupuy J.L., Dreyfuss M.F., Lachâtre G. Dosage de buprénorphine et de norbuprénorphine dans l'urine et le sérum par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse avec ionisation de type électrospray (LC/ES/MS). *Analisis.* 1996 ; 24 : 104-7.
9. Marquet P., Lachâtre G., Kintz P., Pépin G., Deveaux M., Mura P. Identification et dosage des principales drogues amphétaminiques dans le sang total par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM). *Toxicorama.* 1996 ; 8 (2) : 23-8.
10. Ghysel M.H. Amphétamines et dérivés. In : Kintz P. (coordinateur), *Toxicologie et Pharmacologie médico-légales.*, Paris, Elsevier OptionBio, 1998 : 465-542.
11. Lacroix C. Détermination des benzodiazépines par chromatographie liquide haute performance dans les échantillons biologiques. *Toxicorama.* 1996 ; 8 (3) : 35-44.
12. Tracqui A., Kintz P., Ludes B. Dosage sanguin ou plasmatique de triazolodiazépines par HPLC/Ionsray/MS. *Toxicorama.* 1996 ; 8 (3) : 45-58.
13. Jourdil N., Bessard J., Vincent F., Eysseric H., Bessard G. Extraction automatisée du flunitrazépam, 7-amino-flunitrazépam, desméthyl-flunitrazépam et 3-hydroxy-flunitrazépam. Dosages urinaires par CLHP-ES-SM. *Ann. Toxicol. Anal.* 2001 ; 13 : 119-20.
14. Eysseric H., Vincent F., Mallaret M., Barjhoux C., Bessard G., Barret L. Conduite addictive en milieu professionnel : problèmes posés par les médicaments psycho-actifs. *Ann. Toxicol. Anal.* 2002 ; 14 (1) : 74-82.
15. Jeanneau T., Kintz P., Cirimele V., Ludes B. Détermination des concentrations physiologiques de la norandrosterone et de la noretiocholanolone, métabolites urinaires de la nandrolone par CPG/MS. *Toxicorama.* 1999 ; 11 : 25-9.
16. Humbert L., Lhermitte M., Vayssette F., Pepin G., Deschamps F., Ghysel M.H., Lacassie E., Gaulier J.M., Schang L., Ricordel Y., Ciremele V., Kintz P. Détermination des concentrations physiologiques de la norandrosterone et de la noretiocholanolone, métabolites urinaires de la nandrolone par CPG/MS. Résultats d'une étude multicentrique. *Ann. Toxicol. Anal.* 2000 ; 12 : 36-42.