

Dépistage de quatre classes de stupéfiants dans les cheveux par technique ELISA à l'aide du test One-Step™ et confirmation par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Evaluation of the One-Step™ ELISA kit for the detection of illicit drugs in hair, followed by gas chromatography - mass spectrometry confirmation

Marie-Laure PUJOL, Pierre-Julien TRITSCH, Vincent CIRIMELE, Pascal KINTZ

Laboratoire ChemTox, 3, rue Grüninger - 67400 Illkirch - France

*Auteur à qui adresser la correspondance : Pascal KINTZ, Laboratoire ChemTox, 3, rue Grüninger 67400 Illkirch - France - Tél : 03 90 400 540 - Fax : 03 90 400 541 - E-mail : pkintz@labochemtox.com

(Reçu le 2 août 2006 ; accepté après modifications le 6 novembre 2006)

RÉSUMÉ

Cette étude présente une méthode immuno-enzymatique (ELISA, One-Step™, International Diagnostic Systems Corp.) de dépistage des stupéfiants (cannabis, amphétamines, opiacés et cocaïne) dans les cheveux suivie d'une technique de confirmation par GC-MS.

Après décontamination et segmentation, 50 mg de cheveux sont incubés dans 1 ml de méthanol, 16 h à 40°C. Une fraction méthanolique (100 µl) est prélevée, évaporée à sec et le résidu repris par 100 µL du mélange « diluant standard et échantillons » fourni avec le kit et analysé selon les recommandations d'utilisation des kits. Pour la technique de

SUMMARY

This work presents an immunoassay (ELISA, One-Step™, International Diagnostic Systems Corp.) for drugs of abuse screening (cannabis, amphetamines, opiates and cocaine) in hair followed by GC-MS confirmation.

After decontamination and segmentation, 50 mg of hair sample were incubated in 1 ml of methanol during 16 hours at 40°C. A 100µl aliquot was collected and evaporated to dryness. The dried extract was dissolved in 100µl of the "sample and standard diluent" solution included in the kit, and proceeded by the recommended instructions. GC-MS confirmation was conducted, according to our inter-

confirmation (GC-MS), des procédures internes validées ont été utilisées pour chaque stupéfiant à partir de la solution méthanolique d'extraction.

L'application de cette technique à 85 cas réels a permis de mettre en évidence 20 échantillons positifs pour le cannabis (THC : 0,10 à 6,50 ng/mg), 21 pour la cocaïne (0,50 à 55,20 ng/mg), 24 pour les opiacés (6-MAM : 0,20 à 11,60 ng/mg, MORP : 0,20 à 8,90 ng/mg, COD : 0,20 à 5,90 ng/mg) et 13 pour les amphétamines (AP : 0,20 et 0,27 ng/mg, MAP : 0,30 et 1,10 ng/mg, et MDMA : 0,22 à 17,80 ng/mg). Aucun faux négatif n'a été observé aux seuils de positivité retenus (0,50 ng/mg pour la cocaïne, 0,20 ng/mg pour les opiacés et les amphétamines et 0,10 ng/mg pour le cannabis).

Les kits ELISA (One-Step™, IDS) ont montré des performances suffisantes en terme de sensibilité et de spécificité pour le dépistage des stupéfiants dans les cheveux. Une telle application pourrait se révéler intéressante dans le cadre d'un dépistage à l'embauche ou le suivi des salariés occupant un poste à risque, en particulier lorsque le nombre attendu d'échantillons négatifs est important car le dépistage ELISA est une méthode simple et rapide qui permet de traiter un grand nombre d'échantillons dans la journée.

MOTS-CLÉS

Stupéfiants, ELISA, Cheveux, GC-MS.

Introduction

Les stupéfiants sont des psychotropes capables de modifier le fonctionnement du cerveau et de générer une dépendance. Ces substances agissent au niveau de la cellule neuronale soit en mimant l'action, soit en bloquant la sécrétion ou enfin en empêchant la recapture de certains neurotransmetteurs. Ainsi les opiacés (héroïne, morphine, codéine) miment l'action des endorphines et entraînent analgésie et sédation. A l'inverse, la cocaïne ou les amphétamines inhibent, au niveau cérébral, la recapture des amines biogènes (noradrénaline, dopamine) ce qui induit un accroissement de la neurotransmission (1).

Depuis 1986, aux Etats-Unis, la lutte contre la toxicomanie s'est intensifiée, tant dans le monde du travail que dans le monde du sport et sur la route. En France, malheureusement, la prise de conscience collective des ravages des stupéfiants n'est que très récente.

Alors que la consommation de certains stupéfiants est en baisse, notamment celle d'héroïne, d'autres tels que le cannabis, la cocaïne et l'ecstasy voient leur utilisation augmenter, dans toutes les classes sociales et dans toutes les classes d'âge. Ceci est notamment dû à une banalisation dans le grand public de l'influence des stupéfiants sur notre organisme, à un effet de mode, particulièrement pour le cannabis, et à l'impact culturel de ces substances.

Pour les autorités, il devient nécessaire de pallier le plus rapidement possible à cette évolution. Aussi, il est

national validated procedures, for each drug of abuse using the methanolic extract.

For 85 studied cases, 20 were found positive for cannabis (THC: 0.10 to 6.50 ng/mg), 21 for cocaine (0.50 to 55.20 ng/mg), 24 for opiates (6-MAM: 0.20 to 11.60 ng/mg, MORP: 0.20 to 8.90 ng/mg, COD: 0.20 to 5.90 ng/mg) and 13 for amphetamines (AP: 0.20 and 0.27 ng/mg, MAP: 0.30 and 1.10 ng/mg, MDMA: 0.22 to 17.80 ng/mg). No false negative results were observed according to SoHT's cut-offs (0.50 ng/mg for cocaine, 0.20 ng/mg for opiates and amphetamines and 0.10 for THC).

One-step™ ELISA kits appear suitable due to their sensitivity and specificity for drug of abuse screening in hair. This technology could be suitable for workplace drug testing, especially when many samples have to be tested, as ELISA is an easy and high-throughput method.

KEY-WORDS

Drugs of abuse, Hair, ELISA, GC-MS.

impératif de trouver de nouveaux moyens de dépistage des substances illicites, simples et rapides, afin de réaliser des contrôles de grande envergure. Dans le cadre légal, les quatre classes de stupéfiants principalement recherchés sont les cannabinoïdes, les opiacés, la cocaïne, les amphétamines.

Dans cet article, les auteurs présentent une méthode originale de dépistage des stupéfiants dans les cheveux par une méthode immunoenzymatique : le test ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Le cheveu permet une détection des xénobiotiques de quelques semaines à plusieurs mois, en fonction de leur longueur. Ainsi la fenêtre de détection est beaucoup plus importante que le sang ou les urines. Par conséquent, l'analyse d'une mèche de cheveux permet d'établir un profil de consommation de stupéfiants d'un sujet et son évolution dans le temps (2).

La technique ELISA apparaît quant à elle, comme une méthode de dépistage rapide, simple, permettant l'analyse de nombreux échantillons en peu de temps à un coût réduit.

Matériels et méthodes

Échantillons

Les prélèvements sont toujours réalisés après accord de la personne sans lequel il y aurait atteinte de l'intégrité physique de la personne (Art. 3 de la Convention Européenne des Droits de l'Homme).

76 échantillons ont été obtenus d'une part de l'activité médico-légale du laboratoire et d'autre part, de laboratoires hospitaliers ou privés. 7 autres échantillons, constituant des témoins négatifs ont été prélevés sur le personnel du laboratoire.

Solvants et réactifs

Le méthanol, le dichlorométhane, l'isopropanol, l'éthanol, le *n*-heptane, le *n*-hexane, le cyclohexane ainsi que l'acétate d'éthyle, tous de qualité HPLC, proviennent de Carlo Erba (Val de Reuil, France). L'acide chlorhydrique concentré a lui aussi été fourni par Carlo Erba. Les agents dérivants HFBA (heptafluorobutyric anhydride) et BSTFA+ 1% TMCS (N,O-bis(triméthylsilyl) trifluoroacétamide + 1% triméthylchlorosilane) ont été achetés chez Sigma Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France).

L'acide chlorhydrique 1N ainsi que la soude nous ont été fournis par Merck (Darmstadt, Allemagne). Les solutions étalons de stupéfiants, tétrahydrocannabinol (THC), cannabidiol (CBD), cannabinoïle (CBN), amphétamine (AMP), méthamphétamine (MAP), méthylenedioxyamphétamine (MDA), méthylenedioxyéthamphétamine (MDEA), méthylenedioxyéthamphétamine (MDMA), cocaïne (COC), benzoylecgonine (BZE), cocaéthylène (CE), morphine (MOR), codéine (COD) and monoacétylmorphine (6-MAM) et leurs analogues deutérés (THC-d₃, MDMA-, AMP-, MAP-, MDA- et MDEA-d₃, cocaïne-d₃, benzoylecgonine-d₃, cocaéthylène-d₃, morphine-d₃, codéine-d₃ et 6-MAM-d₃) proviennent de LGC Promochem (Molsheim, France) et de Lipomed (distributeur Euromedex, Mundolsheim, France).

Dépistage immuno-enzymatique

Les kits ELISA *One-Step*TM utilisés pour le dépistage des stupéfiants (kit cannabis, kit opiacés, kit cocaïne et kit méthamphétamine) ont été obtenus auprès de International Diagnostic Systems Corp (St. Joseph, MI). Le lavage des puits est effectué par un laveur automatique de microplaques PW 40 et la lecture est réalisée au moyen d'un spectrophotomètre PR 3100. Tous deux ont été fournis par Bio-Rad (Marnes-la-Coquette, France).

Le test ELISA *One-Step* d'IDS est un dosage immunologique en phase solide conçu pour détecter la présence de stupéfiants dans les fluides biologiques (urine, sang, sueur). Par conséquent, un protocole original a été élaboré afin de réaliser le dépistage des stupéfiants dans les cheveux avec le même kit.

Chaque échantillon de cheveux est tout d'abord décontaminé par 2 bains successifs de dichlorométhane (2 ml, 2 minutes) puis découpés en petits segments de 1 mm de longueur. Après homogénéisation, 50 mg d'échantillon sont incubés dans 1 ml de méthanol, 16 h

à 40°C ou 2h au bain ultra-sons. 100 µl de méthanol sont prélevés après centrifugation (15 minutes / 3000 rpm) puis évaporés à sec. Le résidu est repris par 100 µl du mélange « diluant échantillons et standards » fourni dans le kit. 20 µl sont ensuite déposés dans un puit dont le fond est recouvert d'anticorps à forte affinité pour le stupéfiant ciblé. Les étapes suivantes suivent les préconisations du fabricant. Après addition du conjugué enzymatique et incubation (30 minutes à température ambiante), les puits sont lavés 3 fois pour éliminer toute substance non liée avant l'étape finale de révélation par le substrat. L'intensité de coloration, mesurée avec un lecteur de microplaques à 450 ou 650 nm, est inversement proportionnelle à la quantité de stupéfiants présente dans l'échantillon.

Selon les recommandations d'IDS, le test ELISA *One-Step* n'est valable que si les puits contenant le contrôle négatif se sont colorés en jaune vif (absorbance > 1,5). Tout échantillon est suspecté positif si la valeur de son absorbance est inférieure ou égale à celle d'un contrôle positif (fixé au seuil de positivité), et un échantillon est présumé négatif si sa valeur d'absorbance est supérieure à ce même seuil.

Analyses GC-MS

Dans un premier temps, la confirmation des analyses ELISA est réalisée en GC-MS selon des méthodes validées et publiées. En fonction des stupéfiants dosés, les méthodes suivantes ont été utilisées : dosage simultané des opiacés et de la cocaïne (3), dosage successif du cannabis (4) et des amphétamines (5). Ces méthodes classiques seront utilisées pour la validation de notre méthode ELISA.

Dans un souci d'économie d'échantillon et de gain de temps de préparation des échantillons, la fraction méthanolique de l'échantillon, testée précédemment en ELISA, est utilisée comme point de départ. Après une phase d'évaporation, les protocoles d'extraction des stupéfiants dans les cheveux peuvent être appliqués avec, toutefois, quelques modifications.

Pour le dosage des opiacés et de la cocaïne, les volumes ont été modifiés par rapport à la méthode originale : 800 µl de méthanol sont prélevés et évaporés à sec en présence de 200 ng d'analogues deutérés (cocaïne-d₃, benzoylecgonine-d₃, cocaéthylène-d₃, morphine-d₃, codéine-d₃ et 6-MAM-d₃). Le résidu est repris par 1 ml de tampon phosphate pH 8,4 et additionné de 4 ml du mélange dichlorométhane / isopropanol / *n*-heptane (50 : 17 : 33, v/v/v). Après agitation et centrifugation, la phase organique est prélevée et additionnée de 2 ml de HCl 0,2N.

Après agitation et centrifugation, la phase aqueuse est

prélevée. 800 µl de tampon phosphate pH 8,4, 400 µl de NaOH 1N et 2 ml de dichlorométhane sont ajoutés. Une nouvelle étape d'agitation et de centrifugation est nécessaire avant de prélever la phase organique. Cette dernière est ensuite évaporée à sec, reprise par 35 µl de BSTFA + 1% TMCS, puis incubée 20 minutes à 70°C. Pour le dosage du cannabis et des amphétamines, une méthode interne validée a été utilisée avec quelques modifications : 800 µl de méthanol sont prélevés et évaporés à sec en présence de 200 ng d'analogues deutérés amphétaminiques (MDMA-, AMP-, MAP-, MDA- et MDEA-d₅), 30 ng de THC-d₃ et 100 µl du mélange méthanol/acide chlorhydrique (99 :1, v/v). Le résidu est repris par 800 µl de soude 1N, puis additionné de 4 ml du mélange hexane/acétate d'éthyle (90 :10, v/v). La phase organique est prélevée, évaporée à sec et le résidu repris par 25 µl de cyclohexane en vue de l'analyse des cannabinoïdes (THC, CBD, CBN). Ensuite, le cyclohexane est repris puis évaporé à sec. La dérivation des amphétamines est réalisée par ajout de 100 µl de HFBA et 50 µl d'acétate d'éthyle pendant 30 minutes à 60°C. Enfin le dérivé est évaporé et l'extrait sec repris par 25 µl d'acétate d'éthyle.

Les analyses sont réalisées sur un chromatographe en phase gazeuse Agilent 6890N Network GC System couplé à un spectromètre de masse quadripolaire Agilent 5973 à ionisation par impact électronique (70eV).

Le débit du gaz d'éluion (hélium) dans la colonne (HP-5MS, 5% phenyl-95% méthylsiloxane, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) est de 1,0 ml/min.

Les paramètres chromatographiques utilisés pour le dosage des stupéfiants dans les cheveux sont détaillés dans le tableau I et correspondent aux paramètres des méthodes validées et publiées (3-5). Les analyses sont réalisées en mode spectre complet et les ions sélectionnés pour chaque composé sont précisés dans le tableau II.

Tableau I : Paramètres chromatographiques appliqués au dosage des stupéfiants dans les cheveux.

	THC	Amphétamines	Opiacés/ Cocaïne
Injecteur			
Volume injecté	1,0 µL	1,0 µL	1,0 µL
Mode	<i>splitless</i>	<i>splitless</i>	<i>splitless</i>
Température	270 °C	240 °C	270 °C
Gaz	Hélium	Hélium	Hélium
Débit	1 ml/min	1 ml/min	1 ml/min
Four			
Température initiale	60 °C	60 °C	60 °C
Température finale	295 °C	295 °C	295 °C
Température maximale	325 °C	325 °C	350 °C
Rampe de température	30,0 °C/min à partir de 1 minute		

Validation de la méthode

Courbe dose-réponse

Les stupéfiants sont, dans la majorité des cas, retrouvés dans les cheveux à des concentrations allant de 10 pg/mg à 10 ng/mg (6). Les courbes dose-réponse de la méthode ELISA ont été déterminées en dopant un échantillon de 50 mg de cheveux témoins négatifs avec des concentrations croissantes de stupéfiants. Les concentrations finales sont 0,05 ; 0,10 ; 0,25 ; 1,00 et 5 ng/mg pour le THC et 0,1 ; 0,2 ; 0,5 ; 2,5 et 10 ng/mg pour la MDMA, la codéine et la cocaïne.

Répétabilité et reproductibilité

La répétabilité des tests ELISA est évaluée en analysant, le même jour, 8 échantillons dopés à des concentrations connues de stupéfiants correspondant aux seuils de positivité de la *Society of Hair Testing* (7) (THC : 0,1 ng/mg, MDMA : 0,2 ng/mg, codéine : 0,2 ng/mg, cocaïne : 0,5 ng/mg).

La reproductibilité est déterminée en analysant une fois par jour, 5 jours consécutifs, un échantillon de cheveux témoin négatif dopé aux mêmes concentrations que précédemment. Ces 2 paramètres sont appréciés en appliquant la relation : $CV = (\text{écart-type} / \text{moyenne}) \times 100$.

Sensibilité et spécificité du test ELISA

Ces 2 paramètres sont évalués en testant un grand nombre d'échantillons réels en ELISA et par GC-MS. Les résultats obtenus avec les deux méthodes sont alors comparés entre eux. Les vrais positifs (VP), les vrais négatifs (VN), les faux positifs (FP) ainsi que les faux négatifs (FN) sont comptabilisés et on peut ainsi appliquer les deux équations suivantes (8) :

$$\text{Sensibilité} = (\text{VP} \times 100) / (\text{VP} + \text{FN})$$

$$\text{Spécificité} = (\text{VN} \times 100) / (\text{VN} + \text{FP})$$

Sera considéré comme « vrai positif », tout échantillon donnant une réponse positive lors du test de dépistage et confirmé positif lors de l'analyse GC-MS (concentration supérieure au seuil de positivité), alors qu'un « vrai négatif » donnera une réponse négative avec les 2 méthodes. Un « faux positif » produira une réponse positive lors du test ELISA mais ne sera pas confirmé par GC-MS (concentration inférieure au seuil de positivité). Enfin, un « faux négatif » produit une réponse négative lors du dépistage immunologique alors que l'analyse GC-MS démontrera la présence de stupéfiants à des concentrations au moins égales aux seuils de positivité retenus par la *SoHT* (7).

Tableau II : Ions sélectionnés et temps de rétention.

Composé	TR (min)	m/z quantifiants	m/z des standards deutérés	m/z qualifiants
Cannabidiol	9,65	231	302	246, 314
THC	10,05	299	302	231, 271, 314
Cannabinol	10,32	295	302	238, 310
Amphétamine	5,72	240	244	91, 118
Méthamphétamine	6,45	254	258	91, 210
MDA	7,81	375	380	135, 162, 240
MDMA	8,44	254	258	162, 210, 389
MDEA	8,64	268	273	162, 240, 403
Écgonine méthylester	6,54	96	99	82, 272
Cocaïne	9,08	182	185	82, 303
Cocaéthylène	9,26	196	199	82, 317
BZE	9,29	240	243	82, 361
Codéine	9,99	371	374	234, 343
Morphine	10,18	429	432	401, 414
6-MAM	10,48	399	402	204, 340

Résultats

Courbes dose-réponse

Les valeurs de densités optiques des 4 tests diminuent de façon hyperbolique lorsque les concentrations augmentent. Ceci correspond bien au principe du kit : plus l'échantillon est concentré, moins l'enzyme peut se fixer sur les anticorps et plus la valeur de densité optique est faible. La courbe obtenue avec le kit cocaïne est donnée en exemple dans la figure 1.

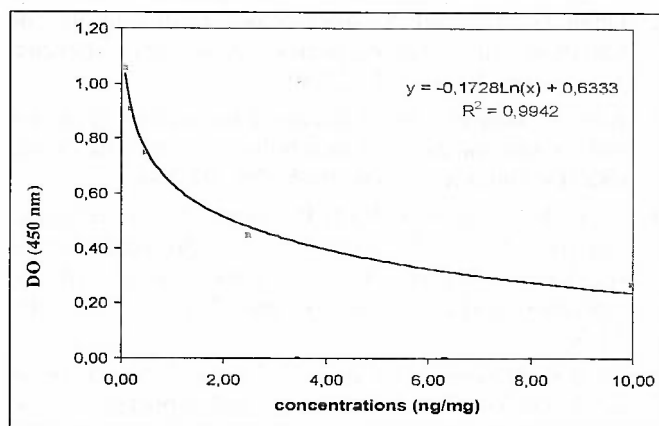


Figure 1 : Courbe dose-réponse du kit ELISA cocaïne pour des concentrations de 0 à 10 ng/mg de cheveux.

Répétabilité et reproductibilité

La répétabilité (n=6) et la reproductibilité (n=5) ont été déterminées pour chaque kit en dopant un échantillon de cheveux témoins négatifs à des concentrations connues de stupéfiants. Pour les 4 kits testés, les CV varient de 7 à 15% pour la répétabilité et de 11 à 13% pour la reproductibilité. Les coefficients de variation de chaque kit ELISA sont précisés dans le tableau III.

Tableau III : Répétabilité et reproductibilité des 4 tests ELISA.

Kit testé	Répétabilité CV (%)	Reproductibilité CV (%)
Cannabis	7	12
Méthamphétamine	10	13
Cocaïne	15	11
Opiacés	10	11

Application de la méthode à des échantillons réels

L'application de cette technique à 83 cas réels, testés en ELISA et en GC-MS par les méthodes validées, a permis de mettre en évidence, 20 échantillons positifs pour le cannabis (THC : 0,10 à 6,50 ng/mg), 21 pour la cocaïne (0,50 à 55,20 ng/mg), 24 pour les opiacés (6-MAM : 0,2 à 11,60 ng/mg, MORP : 0,20 à 8,90 ng/mg, COD : 0,20 à 5,90 ng/mg) et 13 pour les amphétamines (AP : 0,20 et 0,27 ng/mg, MAP : 0,30 et 1,10 ng/mg, et MDMA : 0,22 à 17,80 ng/mg). Les résultats sont mentionnés dans les tableaux IV à VII. Aucun faux négatif n'a été observé aux seuils de positivité retenus (0,50 ng/mg pour la cocaïne, 0,20 ng/mg pour les opiacés et les amphétamines et 0,10 ng/mg pour le cannabis).

Tableau IV : Résultats comparatifs du kit ELISA "cannabis" et de l'analyse par GC-MS réalisés sur 83 échantillons de cheveux.

Kit cannabis (n = 83)	GC-MS +	GC-MS -
ELISA +	20 (24,1%)	22 (26,5%)
ELISA -	0	41 (50%)
Sensibilité : 100 %	Spécificité : 67 %	

Spécificité et sensibilité

Les 83 échantillons analysés ont permis d'évaluer la spécificité et la sensibilité de chaque kit. Les résultats sont consignés dans les tableaux IV-VII.

Est considéré comme positif en GC-MS, tout échantillon dont les concentrations calculées en stupéfiants sont supérieures ou égales aux seuils de positivité fixés par la SoHT. Un échantillon est considéré négatif lorsque les concentrations retrouvées sont inférieures à ces mêmes seuils. Chaque kit testé montre une sensibilité de 100%. En effet, nous ne notons aucun faux négatif. Par contre, aux valeurs seuils choisies, les spécificités s'avèrent moyennes (67-87%). Ceci s'explique, d'une part, par la présence d'échantillons positifs en ELISA mais ayant des concentrations inférieures aux seuils de positivité en GC-MS (THC : 0,01 à 0,05 ng/mg, N= 10, cocaïne : 0,06-0,46 ng/mg, N= 6, opiacés : 6-MAM : 0,02- 0,11 ng/mg, MORP : 0,06-0,17 ng/mg, COD : 0,07-0,14 ng/mg, N= 7 et amphétamines : AP : 0,06- 0,12 ng/mg, MAP : 0,10-0,18 ng/mg, MDMA : 0,07-0,12 N=8), et, d'autre part, par la présence de « vrais faux positifs » (THC : N= 12, cocaïne : N= 2, opiacés : N= 4, amphétamines : N= 5). D'autres seuils de positivité pourraient être testés afin d'augmenter la spécificité des kits.

Discussion - Conclusion

Les stupéfiants font de plus en plus partie intégrante de notre société, et leur consommation ne cesse d'augmenter chez les jeunes comme chez les adultes, et ce n'est pas seulement le problème du cannabis que les autorités doivent traiter. Or dans le dépistage des conduites addictives, le cheveu apparaît comme un outil précieux dans l'arsenal analytique.

En ce qui concerne le test ELISA, il s'agit d'une technique immunoenzymatique, simple, rapide, utilisant peu d'échantillon. De plus elle permet le dépistage d'un grand nombre d'échantillons en peu de temps (< 2 heures). Enfin, l'interprétation des résultats est aisée. Le dépistage ELISA permet donc de réduire le nombre d'échantillons qui seront analysés par GC-MS (confirmation uniquement pour les échantillons positifs en ELISA). Par conséquent, les temps et coûts d'analyse sont réduits, le nombre d'échantillons traités dans la journée augmenté.

En conclusion, cette méthode de dépistage des stupéfiants dans les cheveux, qui s'est montrée fiable, rapide, sensible et reproductible, peut trouver de nombreuses applications :

- contrôle des sujets dans le cas de la restitution du permis de conduire
- suivi toxicologique des sujets en injonction thérapeutique
- dépistage des conduites addictives en entreprise
- dépistage à l'embauche
- suivi des salariés occupant des postes à risque

Il faut noter que les 3 derniers points, encore très peu pratiqués en France, le sont fréquemment à l'étranger (États-Unis, Angleterre, Espagne) et que l'Allemagne et l'Italie ont basé la restitution du permis de conduire sur l'analyse des cheveux.

Tableau V : Résultats comparatifs du kit ELISA "méthamphétamine" et de l'analyse par GC-MS réalisés sur 83 échantillons de cheveux.

Kit méthamphétamine (n = 83)	GC-MS +	GC-MS -
ELISA +	13 (15,7%)	13 (15,7%)
ELISA -	0	57 (68,7%)
Sensibilité : 100 %	Spécificité : 81 %	

Tableau VI : Résultats comparatifs du kit ELISA "cocaïne" et de l'analyse par GC/MS réalisés sur 83 échantillons de cheveux.

Kit cocaïne (n = 83)	GC-MS +	GC-MS -
ELISA +	21 (25,3%)	8 (9,6%)
ELISA -	0	54 (65%)
Sensibilité : 100 %	Spécificité : 87 %	

Tableau VII : Résultats comparatifs du kit ELISA "opiacés" et de l'analyse par GC/MS réalisés sur 83 échantillons de cheveux.

Kit opiacés (n = 83)	GC-MS +	GC-MS -
ELISA +	24 (28,9%)	11 (13,2%)
ELISA -	0	48 (57,8%)
Sensibilité : 100 %	Spécificité : 81 %	

Références

1. Anger J.P. Principaux effets psychiques des stupéfiants : risques en milieu professionnel. *Ann. Toxicol. Anal.* 2002 ; 14 : 68-73.
2. Pépin G., Gaillard Y. Applications médico-légales de l'analyse des xénobiotiques dans les cheveux. *Toxicorama*, 1996 ; 8, 1 : 29-39.
3. Kintz P., Mangin P. Simultaneous determination of opiates and cocaine and its major metabolites in human hair using GC/MS. *Forensic Sci. Int.* 1995 ; 73 : 93-100.
4. Cirimele V., Sachs H., Kintz P., Mangin P. Testing human hair for cannabis. III. Rapid screening procedure for the simultaneous identification of Δ^9 -tetrahydrocannabinol, cannabinol and cannabidiol. *J. Anal. Toxicol.* 1996 ; 20 : 13-6.
5. Kintz P., Tracqui A., Cirimele V., Mangin P. Simultaneous determination of amphetamines, methamphetamine, 3,4-methylenedioxyamphetamine and 3,4-methylenedioxymethamphetamine in human hair by GC/MS. *J. Chromatogr. B.* 1995 ; 20 : 162-6.
6. Cassani M., Spielher V. Analytical requirements, perspectives and limits of immunological methods for drugs in hair. *Forensic Sci. Int.* 1993 ; 63 : 175-84.
7. Society of hair Testing. Recommendations for hair testing in forensic cases. *Forensic Sci. Int.* 2004 ; 145 : 83-4.
8. Lachenmeier K., Musshoff F., Madea B. Determination of opiates and cocaine in hair using automated immunoassay screening methodologies followed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) confirmation. *Forensic Sci. Int.* 2006 ; 159 : 189-99.