

Éditorial

Immunoanalyse et toxicologie

Immunoanalysis and toxicology

Laurence Labat^{1*}, Marc Deveaux²

¹ Laboratoire de Toxicologie et Génopathies, Lille

² Laboratoire TOXLAB, Paris

Ce numéro des *Annales de Toxicologie Analytique* est consacré à l'utilisation de l'immunoanalyse en toxicologie. Les idées fortes de chaque article ont été exposées lors de la journée thématique de la SFTA « Immunoanalyse & Toxicologie » (Paris, 11 décembre 2008) à laquelle 120 personnes ont participé. Pourquoi consacrer une journée à l'immunoanalyse en toxicologie ? Depuis quelques années tous les regards se tournent vers les techniques chromatographiques de plus en plus rapides, couplées à des détecteurs de plus en plus sensibles, et ce pour le plus grand plaisir des toxicologues analystes. Il nous a donc paru évident et important de faire le point sur les évolutions de l'analyse immunochimique et sur sa place dans nos laboratoires de toxicologie en 2009.

L'immunoanalyse tient toujours une place importante pour les analyses toxicologiques de routine. Utilisées par les laboratoires importants ou non, les méthodes vont du test unitaire à l'utilisation d'automates à haut débit. Cependant, si cette méthodologie a des avantages elle a aussi des inconvénients, et un rappel historique permet de mieux appréhender ces différents aspects. Les tests d'immunoanalyse sont fondés sur la réaction d'un antigène (molécule ou famille chimique cible : médicament, stupéfiant) avec un anticorps. On utilise une réaction de compétition, en phase homogène sans étape de séparation des formes libres des formes liées : Enzyme Multiplied Immunoassay Technique (EMIT), Clone Enzyme Donor Immuno Assay (CEDIA), Fluorescence Polarization Immuno Assay (FPIA), Kinetic Interaction of Microparticles in Solution (KIMS) ou en phase hétérogène, avec une étape de séparation : Radio Immuno Assay (RIA), Enzyme Immuno Assay (EIA), Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA), tests unitaires par immuno-chromatographie. La voie a été ouverte par Yalow et Berson qui mirent au point en 1959 le dosage de l'insuline par RIA [1]. En 1970, Spector et Parker produisirent des anticorps anti-morphine, ce qui en permit le dosage par RIA [2]. La production d'anticorps spécifiques a été perfectionnée après les travaux de Kohler et Milstein [3], puis ceux de Chiswell et McCafferty [4]. Les avantages des tests en phase hétérogène (élimination d'interférences endogènes ou colorées, très bonne sensibilité) ont été exploités pour doser des molécules actives à

très faibles concentrations : buprénorphine par RIA [5,6], LSD par EIA [7]. C'est la RIA qui a permis à Baumgartner de lancer les recherches de stupéfiants dans les cheveux [8]. L'adoption d'un marqueur chimiluminescent par DPC a permis de gagner en sensibilité par rapport à la RIA [9]. Par la suite, le développement des microplaques a permis l'automatisation des dosages par ELISA. Parallèlement, les tests en phase homogène se sont développés, principalement dans deux directions : marquage par une enzyme (EMIT-Syva [10]) ou par la fluoresceine (FPIA-Abbott [11,12]). Utilisant les progrès de la génétique, la technique CEDIA a représenté une autre avancée dans ce domaine [13]. La mesure de l'agglutination par KIMS (Online, Roche) autorise aussi des dosages en grande série. Des progrès novateurs viennent de l'utilisation de biochips (Evidence, Randox) automatisée par Fitzgerald et coll. [14] et de particules paramagnétiques (Magnotech, Cozart).

Il est bien établi que l'immunoanalyse peut servir au dépistage de la présence d'un stupéfiant, mais ne peut pas être utilisée comme méthode de confirmation. Cependant des tests peuvent très bien être utilisés pour doser directement des molécules bien définies. La sensibilité du test doit être en adéquation avec la concentration attendue dans la matrice étudiée (trace, zone thérapeutique, intoxication aiguë) et ici entrent en jeu les réactions croisées avec d'autres molécules de la même famille. La spécificité doit être telle que l'on n'obtienne pas ou peu de résultats faux positifs. Enfin, le test doit être répétable [15]. Il ne fait aucun doute que tous les tests commercialisés actuellement pour détecter des familles et/ou doser des xénobiotiques précis remplissent parfaitement ces critères.

Dans ce numéro, la place actuelle des tests unitaires de dépistages des stupéfiants dans la salive est évoquée pour une utilisation chez les conducteurs au bord de la route et en santé au travail. Ces tests rapides sont utilisés officiellement au bord de la route depuis 2004 dans certains pays comme, la Finlande ou l'Australie, et depuis 2008 en France. Les difficultés d'utilisation des tests et d'interprétation des résultats dans la salive sont rappelées, notamment pour les cannabinoïdes. Les récentes améliorations de certains de ces tests sont également décrites. En Europe, les tests salivaires rapides sont encore très peu utilisés en santé au travail. L'utilisation en routine des tests immuno-chimiques dans les matrices alternatives comme le cheveu

* Correspondance : Laurence Labat, laurencelabat@yahoo.fr

est également abordée. Les techniques classiques s'avèrent souvent inadaptées et de nouveaux tests ELISA apparus sur le marché français semblent apporter une solution. À travers différents exemples est évoqué le dépistage rapide des substituts de l'héroïne et autres opioïdes dans le cadre d'un suivi clinique ou dans le cadre médico-légal. De façon plus générale, est rappelé l'intérêt, mais surtout les limites de l'utilisation de l'immunoanalyse en toxicologie médico-légale, avec toutes les impératifs de confirmation que cela impose [15, 16]. On aborde également l'utilité de l'immunochimie pour le dosage de la cotinine dans divers milieux biologiques pour des applications aussi différentes que sont la pédiatrie et la santé au travail. Les avantages en termes de coût et de rapidité, et la bonne sensibilité des tests ELISA permettent une utilisation en routine très largement décrite en Europe. Bien évidemment, est envisagée la place que peut occuper l'immunoanalyse dans les services d'urgences hospitaliers, montrant la diversité de ces tests et leur rapidité d'utilisation, critères parfaitement compatibles avec les exigences des cliniciens pour la prise en charge de patients. Enfin, un aspect inhabituel dans notre métier est développé : l'expansion des méthodes immunochimiques dans le domaine du contrôle des produits d'origine animale, du début de la chaîne alimentaire (sur l'animal de production, sur la viande) jusqu'aux produits finis de l'industrie agroalimentaire.

Quelle est la place de l'immunochimie actuellement en toxicologie ? Ce numéro des *Annales de Toxicologie Analytique*, complément de la journée du 11 décembre 2008 à Paris, répondra certainement à la question.

Références

1. Yalow RS, Berson SA. Assay of plasma insulin in human subjects by immunological methods. *Nature*. 1959; 184: 1648–1649.
2. Spector C, Parker CW. Morphine: radioimmunoassay. *Science*. 1970;168:1347–1348.
3. Kohler G, Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. 1975; 256: 495–497.
4. Chiswell DJ, McCafferty J. Phage antibodies: will new 'coliclonal' antibodies replace monoclonal antibodies? *Trends Biotechnol*. 1992; 10: 80–84.
5. Bartlett AJ. The radioimmunoassay of buprenorphine. *Eur J Clin Pharmacol*. 1980; 18: 339–345.
6. Hand CW, Baldwin D, Moore RA, Allen MC, McQuay HJ. Radioimmunoassay of buprenorphine with iodine label: analysis of buprenorphine and metabolites in human plasma. *Ann Clin Biochem*. 1986; 23: 47–53.
7. Cassells NP, Craston DH, Hand CW, Baldwin D. Development and validation of a nonisotopic immunoassay for the detection of LSD in human urine. *J Anal Toxicol*. 1996; 20: 409–415.
8. Baumgartner WA, Hill VA, Baer JD, Lyon IW, Charavustra VC, Sramek JJ, Blahd WH. Detection of drug use by analysis of hair. *J Nucl Med*. 1988; 5: 980.
9. Whitehead TP. Enhanced luminescence procedure for sensitive determination of peroxidase-labelled conjugates in immunoassay. *Nature*. 1983; 305: 158–159.
10. Rubenstein KE, Schneider RS, Ullman EF. "Homogeneous" enzyme immunoassay. A new immunochemical technique. *Biochem Biophys Res Comm*. 1972; 47: 846–851.
11. Dandliker WB, de Saussure VA. Fluorescence polarization in immunochemistry. *Immunochemistry*. 1970; 7: 799–828.
12. Colbert DL, Smith DS, Landon J, Sidid AM. Single-reagent polarization fluoroimmunoassay for barbiturates in urine. *Clin Chem*. 1984; 30: 1765–1769.
13. Henderson DR, Friedman SB, Harris JD, Manning WB, Zoccoli MA. CEDIA™, a new homogeneous immunoassay system. *Clin Chem*. 1986; 32: 1637–1641.
14. FitzGerald SP, Lamont JV, McConnell RI, Benchikh EO. Development of a high-throughput automated analyzer using biochips array technology. *Clin Chem*. 2005; 51: 1165–1167.
15. Hand C, Baldwin D. Immunoassays. In Jickells S, Negrusz A. Clarke's analytical forensic toxicology. London : Pharmaceutical Press 2008 : 375–391.
16. Spiehler V. Hair analysis by immunological methods from the beginning to 2000. *Forensic Sci Int*. 2000; 107(1–3): 249–259.