

A propos d'un cas d'intoxication volontaire au Laurier rose (*Nerium oleander* L., Apocynaceae)

*A non fatal case of self poisoning by the pink bay-tree (*Nerium oleander* L., Apocynaceae)*

Mustapha MOULSMA^{*(1)}, Éric LACASSIE⁽³⁾, Isabelle BOUDRE⁽¹⁾,
Jean-Michel GAULIER⁽³⁾, Bernard DELAFOSSE⁽²⁾, Gisèle LARDET⁽¹⁾

(1) Laboratoire de Pharmacotoxicologie et Analyse de traces, Hôpital Édouard Herriot - 69437 LYON Cedex 03

(2) Service d'Anesthésie et de Réanimation, Pavillon N, Hôpital Édouard Herriot - 69437 LYON Cedex 03

(3) Service de Pharmacologie et Toxicologie, Hôpital Universitaire Dupuytren - LIMOGES

*Auteur à qui adresser la correspondance : Mustapha MOULSMA, Laboratoire de Pharmacotoxicologie et Analyse de traces, CHU Édouard Herriot, place d'Arsonval - 69437 LYON Cedex 03

(Reçu le 4 janvier 2000 ; accepté le 8 mars 2000)

RÉSUMÉ

Les auteurs rapportent un cas non mortel d'intoxication volontaire par le laurier rose chez une femme de 23 ans. Les premiers symptômes ont été des nausées et une bradycardie sinusale. A son admission en service de réanimation, le bilan biochimique montre une alcalose mixte et une hypophosphorémie. Les prélèvements sanguins effectués en urgence et au cours de l'évolution de l'intoxication ont permis de mettre en évidence une concentration sérique apparente initiale en digitoxine de 46,6 µg/l par dosage immunochimique. Ces résultats ont ensuite été vérifiés par une méthode spécifique utilisant un couplage chromatographie liquidespectrométrie de masse (CL/SM). Le dosage par CL/SM a permis l'identification et la quantification de l'oléandrine dans le sérum, avec des concentrations sériques allant de 11,9 à 19,1 ng/ml. Ce couplage CL/SM permet l'identification formelle et le dosage de l'oléandrine et apparaît comme une méthode de choix en toxicologie clinique, et surtout lors d'expertises médico-légales.

MOTS-CLÉS

Oléandrine, laurier rose, Intoxications, dépistage, CL/SM.

SUMMARY

The authors report a nonfatal case of voluntary intoxication by the pink bay-tree of a 23 year old woman. The first symptoms were nausea and a sinus bradycardia. With its admission in intensive care unit, the biochemical assessment shows a mixed alkalosis and a hypophosphoremy. Using immunochemical assay, serums carried out during the evolution of the intoxication show an apparent serum concentration in digitoxin of 46,6 µg/l at admission. These results were then checked by a specific method using a highly specific liquid chromatography - mass spectrometry (LC/MS) procedure. The LC/MS procedure allowed the identification and the quantitation of oleandrin in the serum, with serum concentrations from 11,9 to 19,1 ng/ml. This screening method using LC/MS appears to be a method of choice in clinical toxicology, and especially for forensic toxicological investigations.

KEY-WORDS

Oleandrin, pink bay-tree, intoxication, screening, LC/MS.

Introduction

Le laurier rose ou *Nerium oleander* L. (famille des *Apocynaceae*) est un arbuste à feuillage persistant très répandu en zones tropicales et subtropicales. *Nerium* vient du grec *neros* qui signifie 'humide' et évoque ainsi l'environnement préférentiel de croissance de cet arbuste : on le trouve très souvent dans les lits des rivières asséchées, dans le Sud des Etats-Unis (de la Floride à la Californie) ou en Europe autour du bassin méditerranéen (France, Espagne, Afrique du Nord, ...) (1). Outre ces espèces sauvages, il est de plus en plus cultivé comme arbuste ornemental ou pour former des haies dans les parcs et jardins car sa hauteur peut atteindre 2 à 3 mètres.

Ce bel arbuste ornemental est connu de plusieurs civilisations depuis des siècles. Malgré sa toxicité, il a longtemps été et est encore employé pour ses nombreuses propriétés curatives dans certaines médecines traditionnelles notamment en Asie.: propriétés abortives, effet bénéfique dans les maladies congestives du cœur (insuffisance cardiaque), traitement de la lèpre, de la malaria, des maladies vénériennes, des indigestions...

Beaucoup de constituants toxiques ont déjà été isolés du laurier rose avec un domaine d'activité très large (insecticide, antimitotique, propriétés cardiotoniques). Les principes actifs à activité cardiotonique présents chez *Nerium oleander* sont l'oléandrine (ou folinérine), la nériine et la digitoxigénine (1,2). Cette composition chimique fait du laurier rose une plante toxique impliquée dans des accidents graves voire fatals (3,4).

Quelques enquêtes épidémiologiques ont été menées pour apprécier les circonstances d'intoxications au laurier rose. L'incidence des expositions toxiques au laurier rose est très variable selon les régions géographiques. L'ingestion peut être accidentelle (confusion avec le laurier sauce...) ou volontairement suicidaire chez les adultes. Dans certaines contrées, c'est par son usage thérapeutique que le laurier rose est dangereux (1). Plusieurs études indiquent que les petits enfants attirés par les fleurs vives et les fruits de *Nerium oleander* ainsi que le bétail domestique sont les plus exposés au risque d'empoisonnement par cette plante. (5, 6, 7)

Actuellement, il n'existe pas de méthode de dépistage rapide en toxicologie hospitalière de l'intoxication par les principes cardiotoniques du laurier rose ou de leurs métabolites. Cependant, l'utilisation de divers tests immunologiques permet la détection indirecte de cet empoisonnement en raison de l'homologie structurale de l'oléandrine avec les glycosides cardiotoniques utilisés en thérapeutique.

Avec les anticorps anti-digoxine, la concentration apparente mesurée de digoxine n'est pas linéairement

liée à la concentration en oléandrine (8). Par contre, avec les anticorps anti digitoxine, l'oléandrinémie peut être calculée à partir de la concentration apparente de digitoxine (9).

La méthode immunologique est rapide et commode pour confirmer l'ingestion de glycosides cardiotoniques très divers. Cependant, elle a l'inconvénient de manquer de spécificité. Le développement de techniques de chromatographie liquide élaborées telles que la CL/SM a permis de franchir cet obstacle avec Tracqui et al.(10,11,12) ainsi qu'avec Lacassie et al. (13).

Description clinique

Depuis 3 semaines, cette femme de 23 ans, férue de botanique avait broyé et ingéré à plusieurs reprises des baies de liane de réglisse des Antilles qu'elle possédait, mais sans succès. Devant cet échec, et en s'inspirant d'un livre sur les plantes toxiques, elle a acheté un Laurier Rose (*Nerium oleander* L.) dont le principal toxique est l'oléandrine, analogue de la digitaline. Elle a donc haché finement dans un mixeur une trentaine de feuilles de laurier rose, les a mêlées à de la purée mouseline et les a ingérées ("espérant la mort par convulsions et étouffement"). Après s'être endormie, la patiente s'est réveillée avec des vomissements intenses et s'est présentée spontanément au Service d'Accueil de l'hôpital pour traitement. A son admission le même jour à 23 h 35, la patiente est consciente, nauséuse, a un état hémodynamique satisfaisant (P.A. 120/60 mmHg) malgré une bradycardie sinusale et régulière (45 pulsations/min), une auscultation cardio-respiratoire normale, et un ventre souple sans hépatosplénomégalie. Elle se plaint de douleurs épigastriques, de nausées et de troubles visuels. Après avoir reçu 0,25 mg d'atropine, sans effet, la patiente est transférée au service de réanimation. Les principaux gestes médicaux ont été la réhydratation et l'administration de charbon actif (CARBOMIX®).

L'examen objective la persistance d'une bradycardie sinusale (40 pulsations /min) s'améliorant rapidement cette fois après administration d'ATROPINE® 1 mg. (rythme à 135 pulsations /min puis stabilisé à 68 pulsations /min). La patiente est consciente et raconte son histoire.

Au cours de la nuit du 3^{ème} jour d'hospitalisation, elle a une phase délirante avec hallucinations visuelles, perte des repères temporels et spatiaux, agitation et hétéro agressivité. L'arrêt de l'atropine s'est alors imposé. Il est à noter que l'atropine seule ne peut pas être à l'origine de ces manifestations.

La patiente peut faire alors la critique de cet épisode et se plaint toujours d'hallucinations visuelles, très colo-

rées, associées à des illusions. Depuis, elle n'a plus d'hallucinations mais se sent fatiguée, déprimée, sans désir suicidaire, et a des propos cohérents. Une prise en charge psychiatrique a été nécessaire.

Matériel et Méthodes analytiques

Immuno-enzymo-fluorimétrie (FIEA)

Principe

Le Test Opus® Digitoxine est une technique immunométrique en phase hétérogène compétitive de type Elisa (FIEA) automatisée sur analyseur OPUS (DADE BEHRING).

Il permet le dosage de la digitoxine dans le sérum ou le plasma hépariné humain.

Lorsque l'échantillon sérique est ajouté au module test Opus, la digitoxine éventuellement présente se fixe sur les sites anticorps. Un autre ajout apporte un digitalique conjugué à une enzyme (noyau digitoxigénine - phosphatase alcaline) qui se lie aux sites anticorps restés inoccupés. Après lavage, l'activité enzymatique est révélée par addition d'un substrat adéquat (le 4-méthyl-ombelliphéryl-phosphate). La lecture se fait en fluorescence avec le couple λ excitation 360 nm / λ émission 450 nm. L'intensité de fluorescence produite est inversement proportionnelle à la quantité de digitoxine contenue dans l'échantillon.

Réactifs

Le module test Test Opus® Digitoxine contient une matrice en fibres de verre sur laquelle est fixée de la digitoxigénine. Il comprend également deux cupules scellées

- une renferme une solution de conjugué (anticorps monoclonaux antidigitoxine marqués à la phosphatase alcaline en tampon contenant de l'acide 8-anilino-naphtalène sulfonique, des stabilisateurs et jusqu'à 0,05 % d'azide de sodium en tant qu'agent de conservation).

- L'autre cupule renferme une solution substrat/lavage, 4-méthylombelliphéryl phosphate en tampon.

Les **calibrateurs** contiennent de la digitaline dans du sérum humain prétraité et correspondent à 6 niveaux de concentration dosés respectivement à 0,5 10,0 20,0 40,0 et 60,0 ng/mL

la courbe de calibration est validée en testant un sérum de contrôle à au moins deux niveaux dans le domaine de mesure.

Le domaine de mesure du test Opus® Digitoxine de 2,5 à 60,0 ng/ml est suffisant pour la détermination de la concentration de la digitoxine pour la majorité des prélèvements.

Spécificité

Le test mesure la concentration dans le sérum ou le plasma hépariné de la digitoxine totale (libre et liée aux protéines).

Des réactions croisées peuvent se produire avec des composants chimiques de structure proche ou ayant une action thérapeutique voisine notamment : Digitoxigénine, Digoxine, Digoxigénine, Testostérone, Furosémide, Phénytoïne, Cortisone, Estradiol, Prednisone Ouabaine, Spironolactone.

DéTECTABILITÉ, domaine d'analyse

La limite de détection est 2,5 ng/mL, Le seuil de positivité est fixé à 5 μ g/L et le domaine d'analyse va de 5 à 60 μ g/L exprimé en digitoxine.

Cette technique est sensible et performante pour estimer le niveau d'intoxication au laurier rose (oléandrine). Elle a servi à la surveillance de l'évolution de l'intoxication.

Couplage chromatographie liquide-spectrométrie de masse (CL/SM)

Réactifs

L'alpha- et la bêta-acétyldigoxine, la digitoxigénine monodigitoxoside et la digoxigénine bisdigitoxoside ont été fournies par le laboratoire Nativelle (France). La convallatoxine, la digitoxigénine, la digitoxine, la digoxigénine, la digoxine, la gitoxine, l'oléandrine et la strophantidine ont été achetées chez Sigma (France). L'acétyldigitoxine et le deslanoside ont été fournis par le laboratoire Sandoz (France), la gitaloxine par le laboratoire Nycomed Christianes (Belgique), le lanatoside C par le laboratoire Serva (Allemagne), la méthyldigoxine et la proscillaridine par le laboratoire Boehringer-Manheim (Allemagne) et le diamino phénylsulfone (étalon interne) par le laboratoire Sigma (France).

L'hydroxyde de sodium (à 25 %), le propanol-2, l'éther et le chlorure d'ammonium ont été fournis par Prolabo (Fontenay-sous-bois, France). L'acide formique et le formiate d'ammonium sont des produits Sigma (St Quentin Fallavier, France). Le méthanol, l'acétonitrile et le chloroforme proviennent de chez Carlo Erba Reagenti (Nanterre, France). L'ammoniaque est fournie par Merck (France).

Le tampon d'extraction à pH 9,5 est préparé à partir d'une solution de chlorure d'ammonium saturée, ajustée à pH 9,5 par ajout d'hydroxyde de sodium 0,25 M. La solution tampon de la phase mobile est constituée de formiate d'ammonium 5 mM, ajusté à pH 3 avec de l'acide formique.

Solutions mères et solutions de travail

Les solutions mères de chaque produit et celle de l'étalon interne sont préparées à 10 mg/l dans le méthanol et sont conservées à 4° C. Les solutions de travail à 10, 1, 0,1 et 0,01 mg/l contenant les 17 hétérosides cardiotoniques sont préparées par dilutions successives dans l'eau purifiée. La solution de travail d'étalon interne à 100 mg/l est obtenue par dilution au 1/10 de la solution mère d'étalon interne dans l'eau purifiée. Les solutions de travail sont conservées à 4° C, à l'abri de la lumière, pour une durée maximale d'un mois.

Instrumentation et conditions analytiques

Le système chromatographique utilisé est constitué :

- d'un injecteur automatique Perkin-Elmer et de 2 pompes haute pression Série 200 LC Perkin Elmer (St Quentin en Yvelines, France),

- d'une colonne chromatographique Nucléosil C18, 5 gm (150 mm x 1 mm d.i.) (Touzart et Matignon, France), d'une phase mobile (débit 40 µL/min.) composée de formiate d'ammonium (5 mM, pH 3) et d'acétonitrile, avec un gradient d'élution programmé de la façon suivante : 25 % d'acétonitrile pendant 1 min., gradient linéaire de 25 à 80 % en 20 min., puis maintenue à 80 % pendant 1 min. et retour à l'état initial en 1 min..

Le spectromètre de masse est un modèle API 100 Sciex (Concord, ON, Canada) équipé d'une source d'ionisation à pression atmosphérique de type ionspray®, (electrospray pneumatiquement assisté). L'ensemble est piloté par un micro-ordinateur Macintosh Power PC 8100 équipé d'un logiciel MassChrom version 1-0 pour le traitement des données. Les principaux paramètres de réglage sont les suivants : la tension d'ionisation est de +5000 V, la tension de l'orifice est de +40 V, le débit de gaz de

nébulisation et de gaz rideau (azote qualité U ; 99,95 %) sur respectivement de 1,2 L/min et 0,95 L/min.

L'acquisition des données est effectuée en mode SIM (Selected Ion Monitoring), sur les ions caractéristiques des 17 analytes et de l'étalon interne : 1 ion de quantification et 2 ions de confirmation ont été sélectionnés pour chaque composé (Tableau II).

Préparation de l'échantillon

A 2 ml de sérum ou d'urine sont ajoutés successivement 50 µL de solution d'E.I. (100 µg/L), 1 ml de tampon N114CI saturé (pH 9,5) et 3 ml d'acétonitrile. L'ensemble est agité par retournement pendant 15 min et centrifugé pendant 5 min à 3000 t/min. La phase surnageante est reprise, puis on y ajoute 8 ml du mélange éther/chloroforme/propanol-2 (30/40/30, v/v/v). Le mélange est agité (15 min) et centrifugé (5 min). La phase organique est reprise, filtrée sur filtre Whatmann (IPS) puis évaporée à sec sous un courant d'azote. L'extrait sec est repris par 25 µL de phase mobile et 2 µL sont injectés dans le système CL/SM.

Résultats et discussion

Dans le cas clinique présenté, l'empoisonnement par un digitalique a été suspecté par les médecins du SAMU dès l'observation des premiers symptômes (bradycardie, troubles intestinaux et douleurs abdominales) et confirmé par l'interrogatoire. Les symptômes neurologiques ont confirmé le diagnostic d'intoxication.

Le bilan biochimique montre une alcalose mixte et une hypophosphorémie. La créatininémie est restée stable. le **tableau I** réunit les données biologiques et toxicologiques du suivi de l'intoxication.

Tableau I : Évolution de quelques paramètres biochimiques et de l'oléandrinémie.

Temps par rapport à la prise toxique (heures)	pH	K+ (mmol/L)	Ca2+ ionisé (mmol/L)	Créatinine (µmol/L)	Phosphore inorganique (mmol/L)	Mg2+ (mmol/L)	LDH (U/L)	Digitoxinémie apparente (µg/L)	Oléandrinémie (µg/L)
5	7,65	4,65		78	0,56			46,6	11,9
6	7,58	4,05	1,22	76	0,37				
12	7,49	4,90	1,26	77	1,01		754		
20								41,6	19,1
24								47,6	9,7
36	7,44	4,60	1,28	70	0,71	1,08	420	44,8	5,3
61	7,43	3,80		87	1,23	0,86		20,9	2,5
85	7,40	4,00		79	1,21	0,75		7,68	<2,5

La technique immunochimique test Opus Digitoxine utilisée en urgence au laboratoire a permis de détecter et de doser la digitoxine dans le sérum durant les 4 jours d'hospitalisation

Dans la procédure de confirmation absolue, les chromatogrammes (**figures 1**) obtenu en courant ionique total (TIC) montrent que les 17 hétérosides cardiotoniques sont relativement bien séparés par la méthode décrite. Leur temps de rétention relatifs par rapport à l'étalon interne est reporté dans le **tableau II**. Des exemples de chromatogrammes (**figures 2 et 3**) reconstitués de l'étalon interne, de la digitoxine et de l'oléandrine montrent qu'il est possible de séparer ces deux molécules et de les distinguer par extraction d'ions grâce à la spectrométrie de masse.

La méthode d'extraction est simple, puisqu'elle ne nécessite qu'une simple extraction liquide/liquide. Les rendements d'extraction de la digitoxine (76,4 %) et de l'oléandrine (80 %) sont très satisfaisants. **La LDD et**

la LDQ sont respectivement égales à 5 et 10 ng/ml. La linéarité a été vérifiée de 10 jusqu'à 100 ng/ml pour les 17 hétérosides cardiotoniques.

La très haute spécificité de la spectrométrie de masse rend cette méthode particulièrement performante lors de l'étude de cas médico-légaux où la nature du digita-lique n'est pas connue a priori. L'ionisation à pression atmosphérique en mode Ionspray est une méthode douce d'ionisation qui ne permet de suivre qu'un nombre limité d'ions caractéristiques (**Tableau II**). Toutefois, les ions de quantification et de confirmation sélectionnés dans cette méthode sont suffisamment caractéristiques pour permettre une identification formelle.

Cette méthode d'identification et de dosage montre tout son intérêt pour le diagnostic et le suivi d'une intoxication. Elle nous a permis dans cet exemple de confirmer l'intoxication au Laurier rose en identifiant l'oléandrine.

Tableau II : Temps de rétention relatifs (T_{RR}) et ions caractéristiques (m/z) des 17 hétérosides cardiotoniques dosés.

Glycosides cardiotoniques	Ion de quantification	Ions de confirmation		T_{RR}
acétyldigoxine	824,2	635,2	375,5	3,02
α et β acétyldigitoxine	840,3	823,5	805,3	1,8
convallatoxine	551,2	405,6	568,7	0,7
deslanoside	960,7	489,6	391,6	1,0
digitoxigénine	375,5	392,3	339,8	2,1
digitoxigénine mono-digitoxoside	375,5	522,5	505,7	2,3
digitoxine	782,2	375,5	635,2	2,6
digoxigénine	391,6	408,4	355,2	0,65
digoxigénine bis-digitoxoside	651,3	668,8	521,8	1,1
digoxine	798,3	781,5	521,1	1,3
gitaloxine	826,5	284	-	2,4
gitoxine	798,3	373,4	408,4	2,0
lanatoside C	1002,5	805,3	651,3	1,4
méthyl digoxine	812,5	795,5	651,3	1,8
oléandrine	577,1	373,4	433,6	2,7
proscillardine	531,6	367,6	-	1,9
strophantidine	405,6	359,4	-	0,9

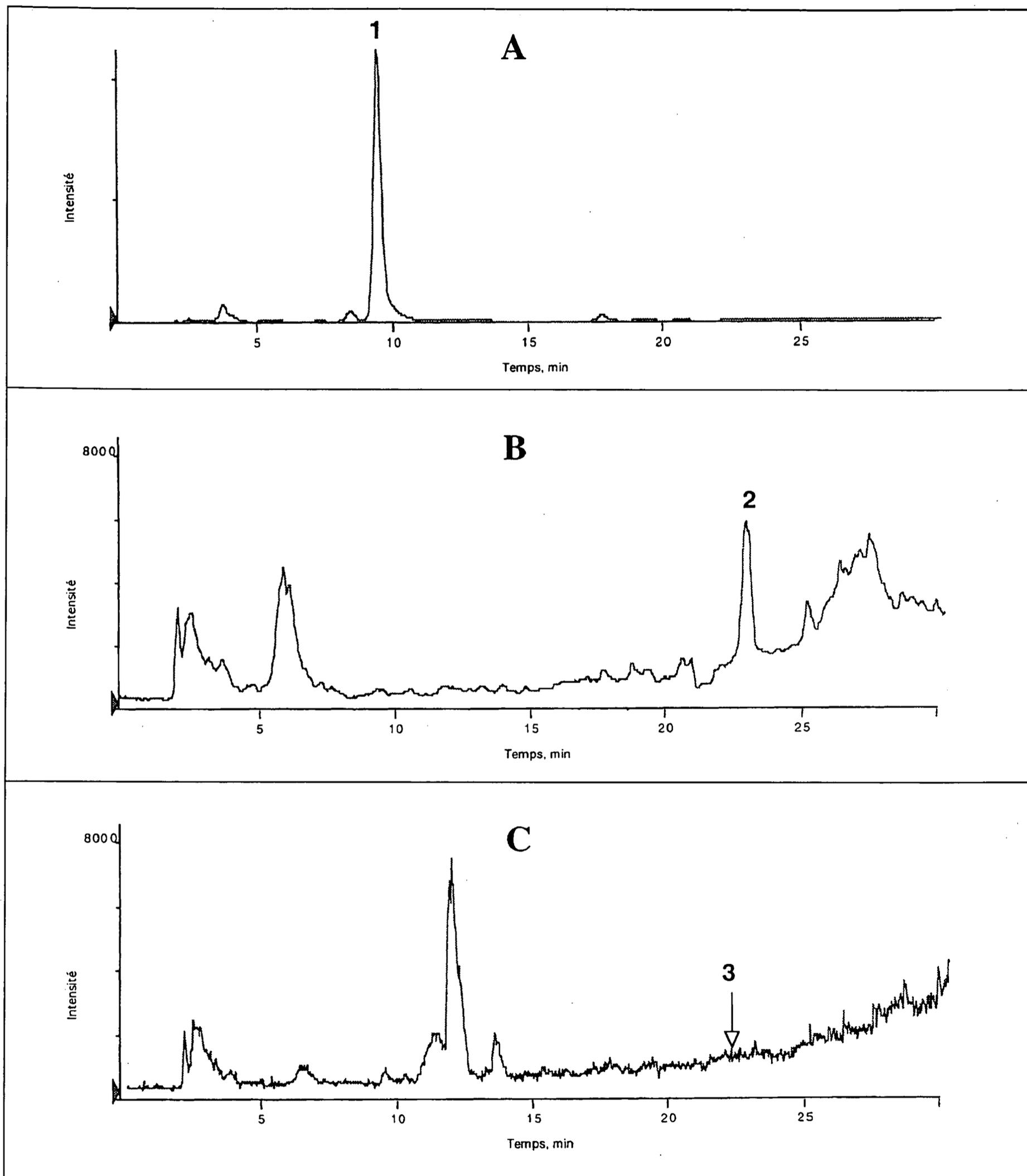


Figure 1 : Chromatogrammes reconstitués d'après les ions de quantification de l'étalon interne (1) en A, de l'oléandrine (2) et de la digitoxine (3) (B et C à partir d'un extrait sérique prélevé chez une patiente ayant ingéré une préparation contenant des feuilles de Laurier Rose broyées.

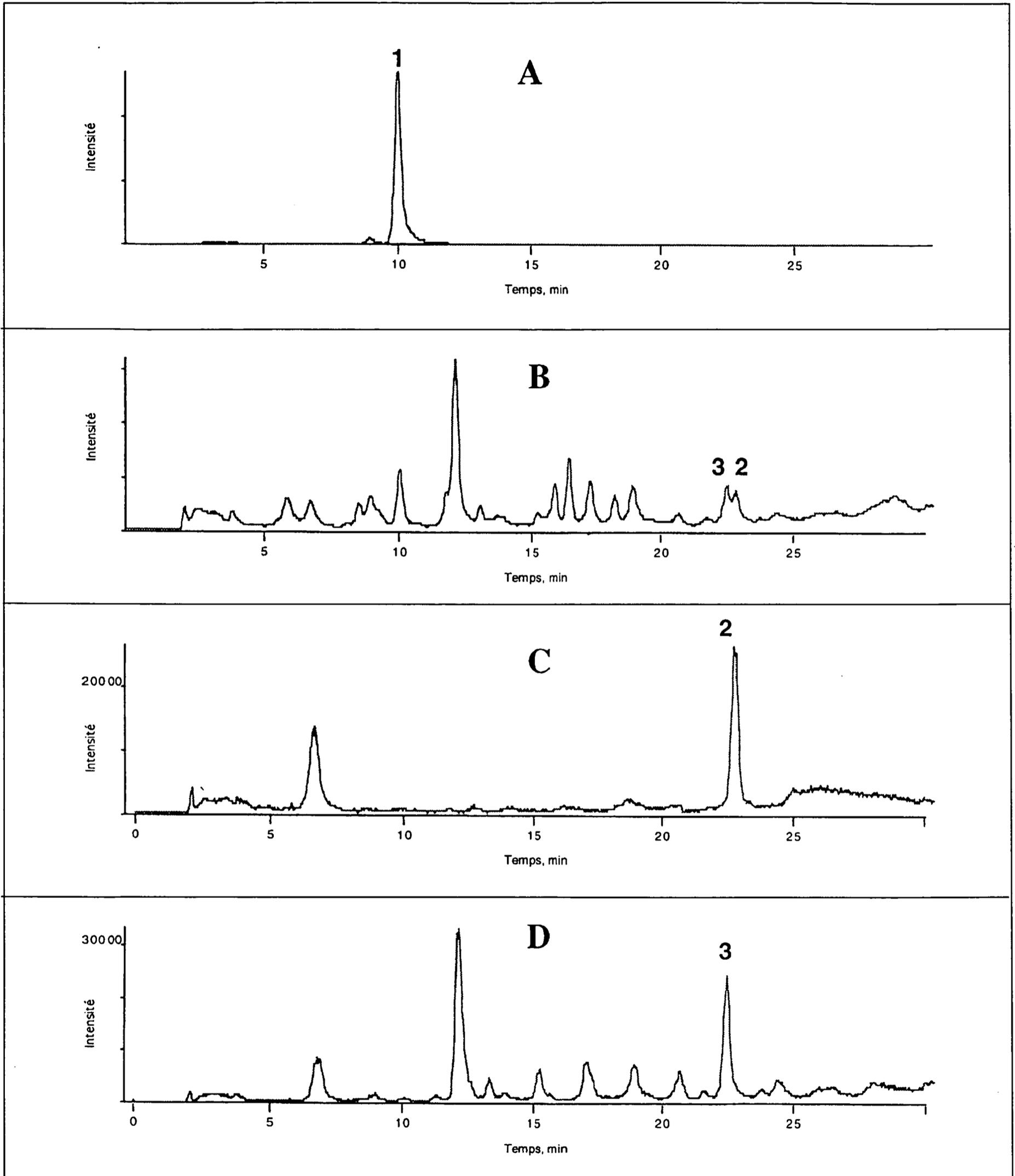


Figure 2 : Chromatogrammes reconstitués d'après les ions de quantification de l'étalon interne (1) en A, de l'oléandrine (2) et de la digitoxine (3) en B, C et D, à partir d'un extrait sérique surchargé en oléandrine et digitoxine à 50 ng/ml.

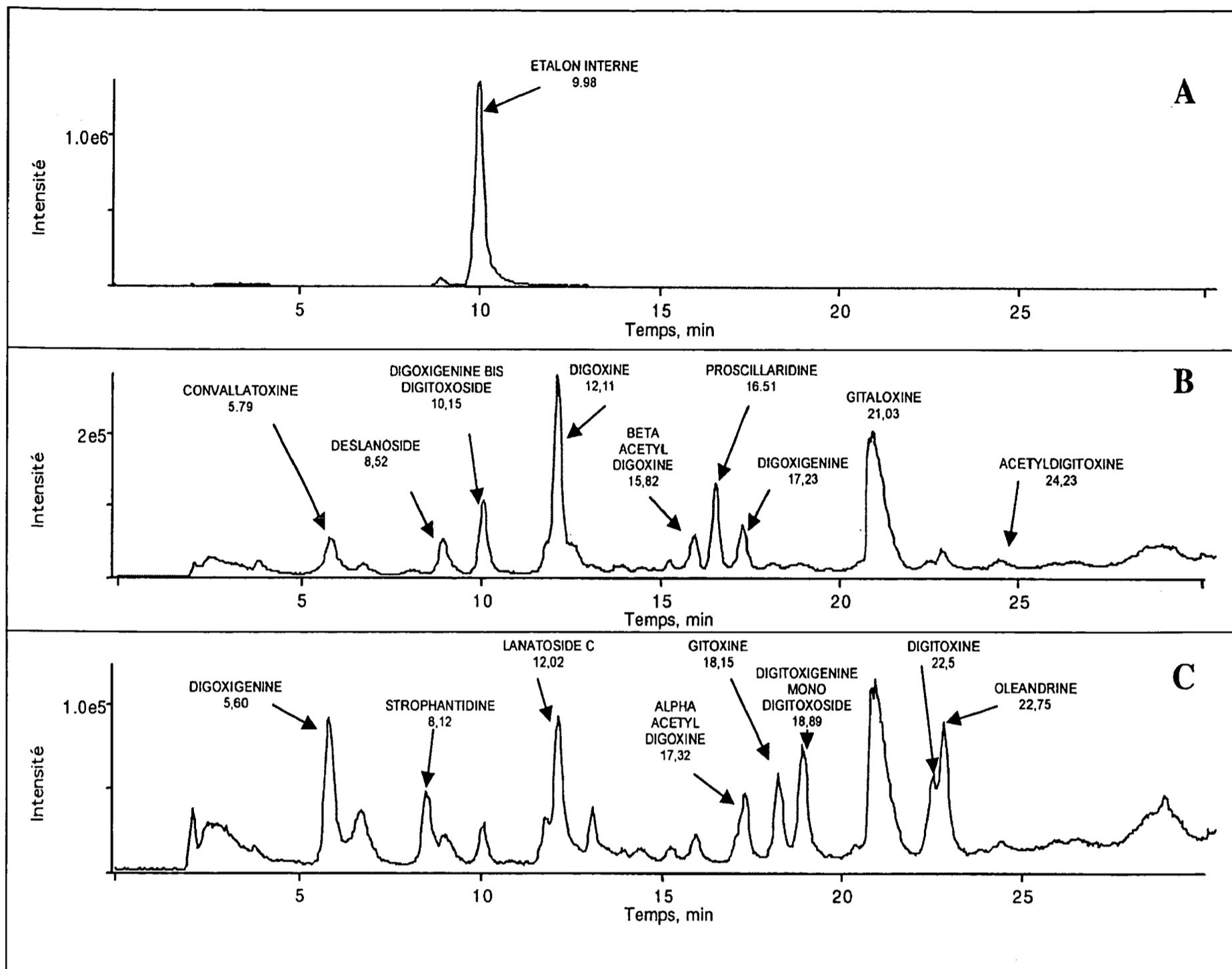


Figure 3 : Chromatogrammes reconstitués d'après les ions de quantification de l'étalon interne (A) et des 17 hétérosides cardiotoniques (C et D), à partir d'un extrait sérique surchargé à 50 ng/ml.

Conclusion

Le laurier rose *Nerium oleander* L. fait toujours parler de lui comme responsable d'empoisonnements volontaires ou accidentels chez les adultes mais surtout chez les enfants et certains animaux domestiques. L'intoxication n'est ni exceptionnelle ni anodine notamment par ses manifestations cardiaques dangereuses et imprévisibles, nécessitant un diagnostic précoce, un traitement adapté ainsi qu'une surveillance médicale et biologique renforcée.

La technique immunologique test Opus® Digitoxine a donné des renseignements peu précis mais rapides permettant la mise en route d'un traitement et la surveillance de l'évolution immédiats.

La mise en œuvre *a posteriori* de l'analyse spécifique par CL/SM a permis l'identification et la quantification

du principal hétéroside cardiotonique en cause, l'oléandrine, l'identification d'autres hétérosides végétaux et a infirmé la présence de digitoxine. Elle constitue donc un outil puissant et résolutif pour l'analyste.

Références

1. Langford S.D., Boor P.J. Oleander toxicity : an examination of human and animal toxic exposures. *Toxicology* 1996 ; 109 : 1-13.
2. Datta P., Dasgupta A. Interference of Oleandrin and Oleandrigenin in digitoxin immunoassays : minimal cross reactivity with a new monoclonal chemiluminescent assay and high cross reactivity with the fluorescence polarization assay. *Ther. Drug. Monit.* 1997 ; 19 (4) : 465-9.
3. JaspersenSchib R., Theus L., GuirguisOeschger M., Gossweiler B., MeierAbt P.J. Serious plant poisonings in Switzerland 1966-1994. Case analysis from the Swiss Toxicology Information Center. *Schweiz Med Wochenschr.* 1996 ; 126 : 1085-98.
4. Jortani S.A., R.A. Helm, R.Valdes Jr. Inhibition of Na,KATPase by oleandrin and oleandrigenin, and their detection by digoxin immunoassays. *Clin. Chem.* 1996 ; 42 : 1654-8.
5. Brewster D. Herbal poisoning: a case report of a fatal yellow oleander poisoning from the Solomon Islands. *Ann. Trop. Paediatr.* 1986 ; 6 : 289-91.
6. Galey F.D., Holstege D.M., Plurnlee K.H., Tor E., Johnson B., Anderson M.L., Blanchard P.C., Brown F. Diagnosis of oleander poisoning in livestock. *J Vet Diagn Invest.* 1996 ; 8 : 358-64.
7. Gupta A., Joshi P., Jortani S.A., Valdes Jr . R., Thorkelsson T., Verjee Z., Shernie S. A case of nondigitalis cardiac glycoside toxicity. *Ther Drug Monit.* 1997 ; 19 : 711-4.
8. Cheung, K., Hinds J.A, Duffy P. Detection of poisoning by plantorigin cardiac glycoside with the Abbott TDx analyzer. *Clin. Chem .* 1989 ; 35 : 295-7.
9. Dasgupta A., Hart A.P. Rapid detection of oleander poisoning using fluorescence polarization immunoassay for digitoxin. Effect of treatment with digoxin-specific Fab antibody fragment (ovine). *Am J Clin Pathol.* 1997 ; 108 : 411-6.
10. Tracqui A., Kintz P., Branche F., Ludes B. Confirmation of oleander poisoning by HPLC/MS. *Int J Legal Med.* 1998 ; 111 : 32-4.
11. Tracqui A., Kintz P., Ludes B., Mangin P. High performance liquid chromatography ionspray mass spectrometry of digoxin and some related cardiac glycosides in human serum. *J. Chromatogr. B* 1997 ; 692 : 101-9.
12. Tracqui A., Kintz P., Ludes B., Mangin P. La LC/MS : méthode de confirmation pour l'analyse de digitaliques dans les fluides biologiques. *Toxicorama* 1997 ; 9 : 5-10.
13. Lacassie E., Gaulier J.M., Ragot S., Marquet P., Lachâtre G. Dosages sériques et urinaires d'hétérosides cardiotoniques par LC-ES-MS dans un cas d'intoxication non mortel par la digitale pourpre. *Toxicorama* 1999 ; 11 : 110-6.